

**Messungen zur CO₂-Diffusion durch die
isolierte menschliche Hautbarriere und
Entwicklung einer hierzu geeigneten
Ultramikromethode**

Ernst Schraube

1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548328_0062

Aus dem
Institut für Medizinische Balneologie und Klimatologie
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. J. Lissner

Messungen zur CO₂-Diffusion durch die isolierte menschliche
Hautbarriere und Entwicklung einer hierzu geeigneten Ultra-
mikromethode.

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München
vorgelegt von

Ernst Schraube
aus Bad Reichenhall

München 1970



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. H. Drexel
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. J. Lissner
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 10.11.1970

Meinem Vater in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis:	Seite
A. Einleitung	5
B. Literaturübersicht	6
I. Über die CO_2 -Diffusion durch die Haut	6
II. Über Stratum corneum conjunctum und Barriere	9
III. Über Methoden zur Bestimmung von CO_2	11
C. Entwicklung einer Ultramikromethode zur CO_2 - Bestimmung mittels potentiometrischer Titrati- on im pH-Stat-Verfahren.	13
I. Vorbemerkungen	13
1. Erforderliche Empfindlichkeit	13
2. Säuren - Basen	15
3. Über CO_2 und Kohlensäure	16
4. pH-Messung	16
5. Die Glaselektrode	17
6. Die Bezugselektrode	18
7. pH-Stat-Verfahren	19
II. Versuchsaufbau und Entwicklung der Methode	20
1. Versuchsplan	20
2. Versuchsaufbau - Übersicht	22
3. Verwendete Meßgeräte	24
4. Der Pumpteil	27
5. Die Diffusionskammer	30
6. Das Titriergefäß	32
7. Die Einströmkapillare	34
8. Die Bikarbonatlösung	36
9. Der Titrant	36
10. Verwendete Gasgemische	39
11. Arbeitsweise der Apparatur und Bedienung	40

	Seite
III. Versuche zur Entwicklung und Prüfung der Methodik	42
1. Zur Beziehung zwischen CO ₂ -Menge und Titrantverbrauch	43
2. Zur gleichbleibenden Empfindlichkeit des Systems bei Zugabe von Titrant	48
3. Zur Reproduzierbarkeit der Ergebnisse	48
4. Zur CO ₂ -Ausbeute und Trägheit des Systems	49
IV. Eichversuche	52
V. Genauigkeit und Empfindlichkeit der Methode	57
D. Anwendung der Methode zur Messung der CO ₂ -Diffusion durch das Stratum corneum conjunctum und andere kleinflächige Membranen	60
I. Vorbemerkungen	60
II. Untersuchungsmaterial	62
III. Versuchsbedingungen	63
IV. Meßergebnisse	64
E. Diskussion	68
I. Zur Methode der kontinuierlichen Bestimmung von CO ₂ in der Gasphase	68
II. Zu den Untersuchungen der CO ₂ -Diffusion durch das isolierte Stratum corneum conjunctum	73
F. Zusammenfassung	83
G. Literaturverzeichnis	85
H. Fotografische Darstellung der Versuchsanordnung.	91

A. EINLEITUNG

Über die Diffusion von Gasen und Flüssigkeiten durch das Stratum corneum der menschlichen Haut bzw. die sogenannte Hautbarriere liegen für zahlreiche Stoffe und Substanzen eine große Anzahl von Arbeiten vor.

Auch am isolierten Barrierehäutchen wurde die Permeabilität für einige wichtige Stoffe bereits untersucht. Über die Diffusion von gasförmigem CO_2 durch die isolierte Hautbarriere scheint jedoch wenig bekannt zu sein.

Auf Anregung von Priv.-Doz. Dr. H. Drexel und Dipl. Phys. K. Dirnagl, machte ich es mir zu Aufgabe, die Durchlässigkeit der menschlichen Haut für gasförmiges Kohlendioxyd in vitro zu untersuchen.

Das Problem der Barrieregewinnung konnte als gelöst angesehen werden. Zur Bestimmung der geringen Kohlendioxydmengen, die bei der Diffusion durch kleine Hautbarrierestücke entstehen, mußte eine geeignete Methode entwickelt werden. So gliedert sich die Arbeit in zwei Teile:

1. Entwicklung einer Methode zur fortlaufenden Bestimmung kleiner Kohlendioxydmengen, und
2. Messungen zur CO_2 -Diffusion durch die isolierte menschliche Hautbarriere.

B. LITERATURÜBERSICHT

I. Literatur über die CO₂-Diffusion durch die Haut

Die CO₂-Diffusion durch die menschliche Haut ist -abgesehen vom rein wissenschaftlichen Interesse - auch von praktischer Bedeutung im Zusammenhang mit der Hautatmung und der Verwendung von Kohlensäurebädern in der physikalischen Therapie. Schon im Jahre 1793 wurde von ABERNATHY (1) eine Arbeit veröffentlicht, in der er sich mit dem Problem der Hautatmung beschäftigt und dabei auch Untersuchungen über die Menge der Kohlensäureausscheidung durch die Haut unter verschiedenen Bedingungen anstellte. In der Folgezeit haben zahlreiche Autoren versucht, die CO₂-Ausscheidung oder -Aufnahme durch die Haut quantitativ zu bestimmen. In Deutschland waren es in den 30er Jahren vor allem SCHMIDT (39), KRAMER (28), SARRE (29) und HÄUSSLER (21), die ausgedehnte Untersuchungen über den quantitativen Durchtritt von Kohlendioxyd durch die Haut durchführten. KRAMER (28) bestimmte die Abnahme der CO₂-Konzentration in kohlensäurehaltigem Badewasser in einer Glasglocke auf der Haut. Für die Auswertung verwendete er den Begriff der Diffusionskonstante

$$K = \frac{\text{cm}^3 \quad \text{CO}_2\text{-Durchtritt}}{100 \text{ cm}^2 \times h \times \text{mm Hg} \quad \text{CO}_2\text{-Partialdruckdifferenz}}$$

Er fand gut übereinstimmende Werte an verschiedenen Stellen des Körpers: $K = 0,0185$ bis $0,0201$.

Gleichzeitig stellte er eine Steigerung der CO₂ Aufnahme durch Hyperämie fest. In einer weiteren Arbeit zusammen

mit SARRE (29) gab er als Mittelwert die Diffusionskonstante $K = 0,0132$ an und wies nochmals auf die erhebliche Steigerung der Diffusion durch hyperämisierende Maßnahmen hin. HÄUSSLER (21) fand mit ähnlicher Versuchsanordnung vergleichbare Ergebnisse. Bei den Messungen an verschiedenen Versuchspersonen zeigten sich - bei normaler Haut - Abweichungen von $\pm 40\%$ des Mittelwertes. ECKERVOGT (17), der die Kohlendioxidaufnahme im CO_2 -Gas- und Wasserbad an der Wirkung am Organismus maß, konnte keinen Unterschied feststellen zwischen trockenem und feuchtem Gas, wohl aber eine erhöhte Wirkung bei Verwendung von strömendem Gas, von trockenem, heißem Gas, sowie bei der Verwendung von Sprudelbädern. ECKERVOGT versucht das mit "einer der Haut mit einer gewissen Kraft anhaftenden dünnen Luftschicht" zu erklären, die durch die Luftströmung, durch die erhöhte Molekulargeschwindigkeit bei höheren Temperaturen und durch das Wasser beseitigt würde. Auch FITZGERALD bezweifelte die von verschiedenen Autoren gefundene Vermehrung der CO_2 -Diffusion durch Feuchtigkeit (20). Im Gegensatz dazu geht aus den Untersuchungen von TOLLE, DIRNAGL und DREXEL (46) eindeutig eine bedeutend größere oder zumindest raschere Wirkung von feuchten Kohlensäuregasbädern gegenüber trockenen hervor.

DIRNAGL und DREXEL (16) benutzten bei einer Zusammenstellung der Permeabilitätseigenschaften der Barriere für verschiedene Stoffe den Begriff der Clearance:

Befindet sich auf den beiden Seiten einer permeablen Membran eine Substanz S in verschiedener Konzentration C_s und C'_s , läßt sich folgende Transportgleichung aufstellen:

M = Menge der Substanz, die durch die Membran von der Seite der höheren Konzentration zur niederen tritt,

F = Fläche der Membran,

t = Zeit,

P_s = der Substanz eigene Konstante (bei gleichbleibender Substanz und veränderlicher Membran membraneigene Konstante)

$$M_s = (C_s - C'_s) F \cdot t \cdot P_s;$$

$$P_s = \frac{M_s}{F \cdot t} \cdot \frac{1}{C_s - C'_s} ;$$

$$P_s = \frac{\text{Substanzmenge}}{\text{Hautfläche} \cdot \text{Zeit}} \cdot \frac{\text{Lösungsvolumen}}{\text{Substanzmenge}} =$$

$$= \frac{\text{Lösungsvolumen}}{\text{Hautfläche} \cdot \text{Zeit}} = \text{Clearancezahl.}$$

Unter der Voraussetzung, daß sich die diffundierende Menge tatsächlich proportional zum Konzentrationsgefälle ($C_s - C'_s$) verhält, stellt die Clearance eine Maßzahl dar, die unabhängig von den Konzentrationsverhältnissen beiderseits der Membran ist.

Auf diese Clearancezahl unter Verwendung der Einheiten $\mu\text{l}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ umgerechnet ergeben sich folgende Werte der Permeabilität der Haut für CO_2 :

FITZGERALD	41-260	$\mu\text{l}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$	(20)
KRAMER	141 -152	"	(28)
KRAMER u. SARAE	101	"	(29)
HÄUSSLER	155 $\pm$ 40%	"	(21)
SCHULZE	64- 260	"	(40)

Tab. 1.: Clearancezahlen für CO_2 .

Es finden sich in der Literatur also ziemlich weit streuende Angaben über die Eigenschaften der CO_2 -Diffusion durch die Haut.

Sie zu objektivieren bediente sich der Verfasser der in-vitro-Methode unter Verwendung der Klebefilm- Abrißtechnik, die von mehreren Autoren (15, 9, 37) bereits zur Untersuchung der Diffusionseigenschaften der Barriere für andere Stoffe erfolgreich verwendet wurde.

II. Über Stratum corneum conjunctum und Barriere

TRAGEAR (47) gibt folgende Vorzüge einer in-vitro-Methode an:

1. Diffusionszellen sind einfach zu handhaben, sie liefern reproduzierbare Ergebnisse,
2. keine Lebensprozesse beeinflussen die Permeabilität,
3. die Dermis beeinflußt die Penetration nicht,
4. die Hautoberflächenbedingungen können ähnlich denen im Leben gewählt werden.

Die Frage, ob die geringe Durchlässigkeit des Stratum corneum in einer bestimmten Schicht derselben zu suchen, oder ob die ganze Haut dafür verantwortlich ist, scheint noch nicht endgültig geklärt. Von den meisten Autoren wird jedoch heute angenommen, daß der hauptsächliche Diffusionswiderstand in einem bestimmten Abschnitt des Stratum corneum zu suchen ist, der Stratum corneum conjunctum oder Barriere genannt wird. (47, 7, 44). Diese Barriere läßt sich durch eine Klebefilm-Abrißmethode gewinnen bzw. von der Haut ablösen (43).

BLANK sowie ERHARD (7, 19) konnten nachweisen, daß die insensible Hautwasserabgabe am Lebenden bei den ersten Abrissen konstant bleibt und erst mit den letzten Abrissen steil ansteigt. MALI (34) fand für isolierte Epidermis und für Barrierehäutchen fast gleiche Diffusionszahlen. Ferner sind nach Messungen von DIRNAGL (15) die Durchtrittszahlen von mit Tritium markiertem Wasserdampf durch die Haut ins Gewebe ebenso groß wie die durch ein Barrierehäutchen in Wasser. Zumindest für H_2O scheint also das Stratum corneum conjunctum den hauptsächlichen Diffusionswiderstand darzustellen. Zur Gewinnung von Hautstückchen für in-vitro-Versuche sind mehrere Methoden beschrieben, von denen sich die Abrißmethode am besten bewährte. SZAKALL (43) löste die dem Klebestreifen anhaftenden Häutchen mit Petroläther ab. RICHTER (37) wies darauf hin, daß möglicherweise durch die Verwendung eines Lösungsmittels die Eigenschaften des Hautabrisses verändert werden. Sie löste die zusammenhängenden Barriereschichten mittels einer Splitterpinzette ab und konnte so ausreichend große lochfreie Hautstückchen für ihre Versuche in der Diffusionskammer gewinnen.

III. Über Methoden zur Bestimmung von CO₂

Zur Bestimmung von Kohlendioxyd in Luft und Wasser sind zahlreiche Methoden entwickelt worden. Sie beruhen auf verschiedenen meßbaren Eigenschaften und Reaktionen des Kohlendioxyds. Zu den älteren Methoden zählt die Bestimmung im Gasanalysegerät nach ORSAT, die Titration des Kohlendioxyd in wässriger Lösung nach verschiedenen Verfahren und die Absorption an ein Absorbens und anschließende Wägung oder manometrische Bestimmung der absorbierten Gasmenge. Später gesellten sich dazu Meßanordnungen, die mit elektrischer und thermischer Konduktometrie arbeiteten, ferner die Ultrarotabsorptionsmethode und polarometrische Verfahren. Außer der gasvolumetrischen Bestimmung nach ORSAT, deren untere Bestimmungsgrenze bei 0,1 - 0,2 Vol% bei einem Analysefehler von $\pm 25\%$ liegt (13), lassen sich alle Methoden für den Mikro- und Ultramikrobereich mehr oder weniger gut adaptieren. Die Erfassung des Kohlendioxyds im Mikrogrammbereich bereitet also heute keine Schwierigkeiten. Erst bei kleineren zu bestimmenden Mengen werden die apparativen und die an den Analytiker gestellten Anforderungen größer (45).

Die empfindlichsten Verfahren, die dem Verfasser jedoch nicht zur Verfügung standen, sind in neuester Zeit die gaschromatographischen. Die Empfindlichkeit schwankt je nach verwendetem Detektor zwischen $0,2 \cdot 10^{-9}$ Mol/sec Ionisationsdetektor (30), 10^{-7} g/ml (Wärmeleitfähigkeitsdetektor) und 10^{-14} g/ml (Argondetektor) (14).

Dies ist jedoch die reine Empfindlichkeit der Detektoren; die tatsächlich erreichte Empfindlichkeit und Genauig-

keit ist u.a. abhängig von den Trennverfahren, die notwendig sind, um andere störende Gasbestandteile, z.B. Wasserdampf, auszuschalten.

Aber auch mit herkömmlichen Methoden wurden durch entsprechende Verfeinerung gute Ergebnisse erzielt.

JURANEK (26) bestimmte durch photometrische Messung der pH-Änderung einer mit Phenolphthalein versetzten Alkalilauge CO_2 in Luft mit einer Genauigkeit von 10^{-6} Vol% bei einem Gaseinsatz von 300 ml (entsprechend einer Empfindlichkeit von $6 \cdot 10^{-6}$ g CO_2). SZEKIELDA (45) arbeitete mit elektrischer Leitfähigkeitsänderung von NaOH mit einer Reproduzierbarkeit von 10^{-6} g CO_2 .

VAN BUGGEN und SCOTT (8) maßen die Leitfähigkeitsänderung einer mit SrCO_3 gesättigten $\text{Sr}(\text{OH})_2$ -Lösung und erreichten eine Reproduzierbarkeit von 10^{-7} g CO_2 . Bei dem auf dem Prinzip der Relativkonduktometrie arbeitenden Gerät Ultragas IV der Fa. Wösthoff liegt die Standardabweichung bei integrierenden Messungen im Bereich von 1 - 20 Mikrogramm bei 0,4 μg (36). COGGINS und MAFFLY (10) erzielten bei einer ähnlichen Fragestellung, wie sie bei dieser Arbeit vorlag, mit einem komplizierten Verfahren eine Genauigkeit von $\pm 3 \cdot 10^{-6}$ g CO_2 .

Auch maßanalytisch konnten bei Verwendung nichtwässriger Lösungsmittel Genauigkeiten von $0,2 \cdot 10^{-6}$ g erreicht werden (24, 42).

In der vorliegenden Arbeit, in der eine Messung kleinster Kohlendioxydmengen erstrebt wurde, wurde eine Methode entwickelt, die - in wässrigem Medium - auf der kontinuierlichen potentiometrischen Titration im pH-Stat-Verfahren beruht.

C. ENTWICKLUNG EINER ULTRAMIKROMETHODE ZUR CO₂-
BESTIMMUNG MITTELS POTENTIOMETRISCHER TITRATION
IM pH-STATVERFAHREN.

I. Vorbemerkungen

1. Erforderliche Empfindlichkeit

Die Meßwerte, die bei den vorliegenden Versuchen mit einer ausreichenden Meßgenauigkeit bestimmt werden sollten, waren durch die Barrierefläche gegeben, die den Gasaustausch in der Diffusionskammer vermittelte, ferner durch die anzuwendenden Konzentrationsdifferenzen zwischen den beiden Seiten der Membran. Da die Widerstandsfähigkeit der Hautbarriere gegen mechanische Einflüsse nicht sehr groß ist, und sich schwer größere lochfreie Barriestücke gewinnen lassen, wurde für den freien Gasaustausch eine kreisförmige Fläche mit einem Durchmesser von 4 mm gewählt.

$$F = 2^2 \cdot \pi \text{ (mm}^2 \text{)} = 12,56^2$$

Als Clearancewert der Epidermis wurde der von KRAMER und SARRE (29) angegebene Wert zugrundegelegt:

$$\text{Clearance}_{\text{CO}_2} = \text{ca. } 100 \text{ } \mu\text{l/cm}^2 \cdot \text{h}$$

Bei einer Kohlendioxydkonzentration von 100 % auf der Primärseite und annähernd 0 % auf der Sekundärseite, ergibt sich für die Fläche von $12,56 \text{ mm}^2$ ein Meßwert von:

$$\frac{M_s}{t} = (c_s - c'_s) \cdot F \cdot P_s =$$

$$= 1 \cdot 12,56 \cdot 10^{-2} \cdot 100 = 12,56 \text{ } \mu\text{l/h} ;$$

Umgerechnet auf Gramm:

$$\text{Molvolumen von CO}_2 \text{ bei } 20^\circ\text{C} = 23,9 \text{ l/Mol} \quad (3)$$

$$\text{Molekulargewicht von CO}_2 = 44,1 \text{ g/Mol} \quad (3)$$

$$12,56 \text{ } \mu\text{l/h} = \frac{44,1 \cdot 12,56 \cdot 10^{-6}}{23,9} =$$

$$= 23 \cdot 10^{-6} \text{ g/h}$$

Bei einer Meßgenauigkeit von 3 % betrüge die erforderliche Empfindlichkeit etwa $0,7 \cdot 10^{-6} \text{ g/h}$.

Für kürzere Meßzeiten als eine Stunde muß die Empfindlichkeit natürlich entsprechend größer sein. Im Laufe der Untersuchungen ergab sich zusätzlich, daß der Clearancewert der Barriere unter bestimmten Bedingungen bis auf 1/50 des von KRAMER und SARRE angegebenen Wert sank, so daß insgesamt eine um etwa zwei Zehnerpotenzen höhere Empfindlichkeit erforderlich wurde. (Erreichte Empfindlichkeit $0,01 \cdot 10^{-6} \text{ g CO}_2$).

2. Säuren und Basen:

Reines Wasser bildet in geringem Maße Ionen nach der Gleichung:



Aus dem Massenwirkungsgesetz folgt für diese Reaktion:

$$\frac{(\text{H}_3\text{O}^+) \cdot (\text{OH}^-)}{(\text{H}_2\text{O}) \cdot (\text{H}_2\text{O})} = K_{\text{GL}}$$

Da die Konzentration an H_2O durch die sehr geringe Ionisierung nur minimal geändert wird, zieht man die praktisch konstante Größe $(\text{H}_2\text{O})^2$ mit K_{GL} zusammen und erhält so das sogenannte Ionenprodukt des Wassers:

$$(\text{H}_3\text{O}^+) \cdot (\text{OH}^-) = 10^{-14} \quad (\text{bei } 20^\circ\text{C}) \quad (12)$$

Beim Gleichgewichtspunkt ("neutrale Reaktion") ist die Konzentration der Hydroniumionen sowie der „ OH^- “-Ionen 10^{-7} (Mol/l). Es gibt Stoffe, die durch Abgabe von Protonen das Gleichgewicht auf die Seite der Hydroniumionen verschieben (sogenannte Säuren) und solche, die durch Abgabe OH^- -Ionen bzw. Anlagerung von Protonen die OH^- -Konzentration erhöhen (Basen) (12).

Aus praktischen Gründen hat man den pH -Wert eingeführt. Man ist übereingekommen, den Säurewert $= \text{pH}$ anzugeben als den mit -1 multiplizierten dekadischen Logarithmus der Volumenkonzentration der Hydroniumionen.

(Mol pro 1000 cm^3 der fertigen Lösung) (18)

3. Über CO_2 und Kohlensäure:

Kohlendioxyd ist - in Abhängigkeit von Temperatur und Druck - gut im Wasser löslich; mit H_2O reagiert es in geringem Betrag (0,1 %) zu Kohlensäure H_2CO_3 . Diese Kohlensäure ist eine an sich mittelstarke Säure, ihre Säurekonstante K_1 beträgt $5 \cdot 10^{-4}$ (23). Da aber 99,9 % des gelösten CO_2 als unverändertes Kohlendioxyd vorliegen, wirkt die Gesamtlösung als schwache Säure. Deshalb pflegt man die scheinbare K_s anzugeben, indem man als undissoziierten Säureanteil ($\text{H}_2\text{CO}_3 + \text{CO}_2$) einsetzt. K_s ist dann, bei 20°C $4,16 \cdot 10^{-7}$ (11).

HENDERSON und HASSELBALCH haben die Beziehung von pCO_2 , HCO_3^- und pH in einer nach ihnen benannten Gleichung zusammengefaßt:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{(\text{HCO}_3^-)}{(\text{CO}_2)}$$

Auf dem Prinzip der pH-Messung bei bekannten pCO_2 (Kohlendioxydpartialdruck) beruhen Methoden zur Bestimmung von Bikarbonatkonzentrationen (4); auch kann man bei bekannten Bikarbonatkonzentrationen durch pH-Messung den pCO_2 bestimmen (41).

4. pH-Messung

Zur Messung des pH kann man grundsätzlich jede Eigenschaft eines Systems heranziehen, die einen eindeutigen Gang mit der Volumenkonzentration der Wasserstoffionen

aufweist. Gebräuchlich sind vor allem die elektrometrische und die colorimetrische Bestimmung. Von diesen beiden zeigt die elektrometrische eine bei weitem größere Genauigkeit und gilt in wässrigen Lösungen als die Methode der Wahl (18). Zur elektrometrischen Bestimmung des pH wird eine Elektrode benötigt, deren Potentialbildung eine eindeutige Funktion der Wasserstoffionenkonzentration des jeweils vorgegebenen Systems darstellt. Zusätzlich ist eine Bezugelektrode erforderlich, deren Potential, zumindest in Grenzen, von dem umgebenden pH unabhängig ist. Zur Messung der Potentialdifferenz braucht man natürlich noch ein entsprechendes Meßgerät, das den hohen Anforderungen an Empfindlichkeit und Genauigkeit genügt. Der Innenwiderstand der sogenannten Elektrodenmeßkette ist im allgemeinen sehr hoch, so daß die Potentialmessung möglichst mit keinem Stromverbrauch verbunden sein darf. Unter der Verwendung der heute üblichen Röhrenpotentiometrie und Verstärkern ergibt sich eine sehr hohe Genauigkeit der pH-Messung (18).

Als Elektroden wurden für die vorliegenden Versuche das Paar Glaselektrode - Kalomelektrode gewählt, die sich in einer Meßlösung chemisch neutral verhalten.

5. Die Glaselektrode:

Der wirksame Teil einer Glaselektrode ist die aus besonderem Glas hergestellte Membran. Wenn diese Membran eine Trennungslinie zwischen zwei Lösungen verschiedener Wasserstoffionenkonzentration bildet, so wird ein Potential zwischen beiden Seiten der Membran erzeugt. Dieses Potential verhält

sich proportional zur Differenz im pH-Wert der beiden Lösungen. Enthält die Glaselektrode, deren spezifische Membran im allgemeinen kugel- oder zwiebelförmig ist, eine Lösung von bekanntem pH - sogenannte innere Flüssigkeit - so läßt sich durch Messung des Potentials zwischen der inneren Flüssigkeit und dem die Membran umgebenden Milieu der pH dieser äusseren Flüssigkeit bestimmen. Der Proportionalitätsfaktor guter Glaselektroden ist derselbe wie bei der Wasserstoffelektrode, nämlich $0,1984 \cdot T$ (mV/pH), wobei T die absolute Temperatur nach KELVIN bezeichnet. Bei 20°C ist der Faktor 58,1 mV/pH.
(18)

Außer dem pH-proportionalen Potential entwickelt die Glaselektrode ein teilweise konstantes Potential, das sogenannte asymmetrische Potential, von etwa 10 mV oder 0,2 pH.

Das asymmetrische Potential hängt ab von der Zusammensetzung des Glases der Membran und der Art der Herstellung und verändert sich im Laufe der Zeit etwas. Deshalb muß bei Messungen mit Glaselektroden in bestimmten Zeitabständen mit Hilfe einer Pufferlösung von bekanntem pH-Wert geeicht werden. Die handelsüblichen Glaselektroden enthalten eine Innenflüssigkeit mit dem pH 6,5. Die Meßgeräte sind im allgemeinen so eingerichtet, daß sie bei einer Temperatur von 20°C an der Meßskala den Säurewert der Probelösung in pH-Einheiten angeben.

6. Die Bezugslektrode (Kalomelektrode)

Diese Elektrode hat, wie oben angeführt, die Aufgabe, ein Potential zu erzeugen, das vom pH unabhängig ist. Im Ver-

hältnis dazu kann dann das Potential der Glaselektrode gemessen werden. Bei den Versuchen wurde eine gesättigte Kalomelektrode verwendet. Die Verbindung zwischen der Kalomelektrode und der Probelösung wird dabei durch eine gesättigte Kaliumchloridlösung hergestellt. Dadurch wird das Bezugspotential unabhängig von der gerade untersuchten Lösung, da die starke Kaliumchloridlösung fast kein Diffusionsvermögen entwickelt (K^+ und Cl^- -Ionen sind gleich groß und diffundieren deshalb gleich stark) (18).

7. pH-Stat-Verfahren:

pH-Stat bedeutet Konstanterhaltung des pH-Wertes einer Lösung durch gesteuerte Zugabe eines Titranten. Die Lösung der Titrantzugabe erfolgt z.B. durch ein potentiometrisches pH-Meßgerät, etwa zusammen mit den oben beschriebenen Elektroden. An dem Meßgerät kann ein Sollwert-pH eingestellt werden. Weicht der tatsächliche Säurewert von diesem Sollwert ab, so wird von dem Gerät elektronisch ein Kontakt geschlossen bzw. ein elektrischer Impuls erzeugt. Die Dauer des Impulses ist proportional der Abweichung des Ist-Wertes vom Sollwert. Wird durch diese Impulse das Ventil einer Bürette geöffnet oder der Motor einer Kolbenbürette in Bewegung gesetzt, die dann eine der Dauer des Impulses proportionale Menge von Titranten der Meßlösung zugibt, so bleibt der pH der letzteren konstant. pH-Stat-Verfahren werden erfolgreich vor allem bei biochemischen Untersuchungen angewandt (48, 32, 2).

II. Versuchsaufbau und Entwicklung der Methode

1. Versuchsplan

Die Versuchsanordnung beruht auf folgender Überlegung: Nach der HENDERSON-HASSELBALCH'SCHEN Gleichung verursacht jede Änderung des Kohlensäurepartialdruckes ($p\text{CO}_2$) in einer wässrigen Kohlendioxyd-Kohlensäure-Bikarbonat-Lösung eine Änderung des pH dieser Lösung. Wählt man nun die Flüssigkeitsmenge möglichst klein, so verursacht bereits eine geringe absolute Menge CO_2 eine erhebliche Änderung des $p\text{CO}_2$ und somit des pH. Aus der Kohlensäure-Dissoziationsgleichung bzw. ihrer graphischen Darstellung läßt sich ferner ersehen, daß es Bereiche gibt, in denen eine kleine Änderung des $p\text{CO}_2$ eine große pH-Änderung ergibt und solche, in denen es nur zu einer geringen pH-Änderung kommt.

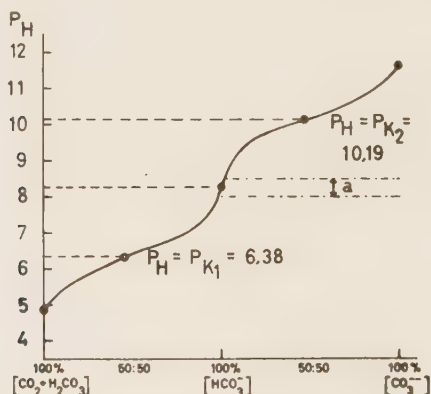


Abb. 1: Graphische Darstellung der Dissoziationsgleichung für Kohlensäure. Für eine 10⁻³-molare Lösung nach Koblet (27) berechnet. Dissoziationskonstanten bei 20°C (23,18).

a bezeichnet den Bereich der geringsten Pufferung.

Gemessen wurde bei den vorliegenden Versuchen der pH. Die größte Empfindlichkeit des Systems lag also im Bereich der schlechtesten Pufferung. Dieser Bereich erstreckt sich etwa von pH 8,0 bis pH 8,5. Bei konstantem pH hängt nach der HENDERSON-HASSELBALCH'SCHEN Gleichung der $p\text{CO}_2$ von der Konzentration an HCO_3^- ab. Durch geeignete Einwaage von Bikarbonat in H_2O lassen sich also Lösungen herstellen, deren pH nach Äquilibrierung mit einem bestimmten $p\text{CO}_2$ in dem oben genannten günstigen Bereich der geringsten Pufferung liegt. Wird nun in diese Lösung ein Gas eingeleitet, dessen CO_2 -Partialdruck höher als derjenige der Lösung ist, so ändert sich der pH der letzteren nach unten, weil das "überschüssige" CO_2 in Lösung geht, Wasser anlagert und dissoziiert. Mittels des oben beschriebenen pH-Stat-Verfahrens ist es möglich, die dabei gebildete Hydronium-Ionen durch Base zu neutralisieren, und dadurch den pH und somit den $p\text{CO}_2$ der Lösung aufrecht zu erhalten.

Zeigt der Verbrauch von Base einen proportionalen Gang mit der Menge "überschüssigen" CO_2 , das pro Zeiteinheit in die Lösung eingeleitet wird, so kann man mit diesem Verfahren CO_2 -Partialdruckdifferenzen bestimmen. Eben das aber ist eine Möglichkeit, die CO_2 Diffusion durch kleine Membranen zu messen. Die Partialdruckdifferenz ist dann die Differenz zwischen dem $p\text{CO}_2$ des Trägergases vor und nach der Diffusionskammer bzw. zwischen dem reinen Trägergas und dem (Trägergas + die durch die Membran diffundierte Menge CO_2).

Mit Gasgemischen bekannter CO_2 Konzentration kann die Abhängigkeit des Titrantverbrauchs von der Partialdruckdifferenz geeicht werden.

Man erhielt so eine recht empfindliche Methode zur Bestimmung.

2. Versuchsaufbau - Übersicht

Bevor auf die einzelnen Elemente der Versuchsanordnung eingegangen wird, soll der Versuchsaufbau kurz in einer Übersicht dargestellt werden.

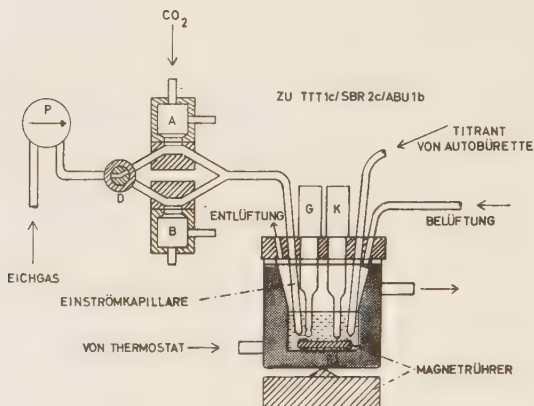


Abb. 2:

P	= Pumpteil
D	= Umschaltvorrichtung
A u. B.	= Diffusionskammern
G	= Gaselektrode
K	= Kalomelektrode
TTT1c	= Meß- und Steuergerät
Abu1b	= automatische Bürette
SBR2c	= Schreiber

Weitere Erklärung siehe Text.

Das zentrale Teilstück der Anlage stellt das Titriergefäß dar. Es wird durch einen Thermostaten über einen Wassermantel auf konstanter Temperatur gehalten. Ein

Magnetrührer dient zum Umrühren. In das Titriergefäß wird eine Bikarbonatlösung eingefüllt, deren pH nach Ausgleichung mit Preßluft (340 ppm) zwischen 8 und 8,5 liegt. (In den vorliegenden Versuchen pH 8,15 = Sollwert). Mittels eines Elektrodenpaares G und K wird von dem Meß- und Steuergerät TTT1c der pH der Bikarbonatlösung kontinuierlich gemessen und mit dem eingestellten Sollwert verglichen. Sinkt der pH unter diesen Wert, werden von dem Steuergerät Impulse erzeugt, die den Motor der automatischen Bürette Abu 1b in Bewegung setzen. Dadurch wird dem Titrationsgefäß über eine Schlauchverbindung Titrant (KOH) zugeführt; der Verbrauch an Titrant pro Zeiteinheit wird von dem Schreiber SPR 2 c registriert.

Der gaszuführende Teil besteht aus dem Pumpteil (P), einer Umschaltvorrichtung (D), mit der der Gasstrom (z.B. Stickgas) wahlweise durch eine der beiden Diffusionskammern A u. B geleitet werden kann. Über eine, den Diffusionskammern angeschlossene Kapillare (Einströmkapillare) wird der Gasstrom in die Bikarbonatlösung eingeführt. Ist der CO_2 -Gehalt des eingeleiteten Gases höher als 340 ppm, sinkt der pH der Bikarbonatlösung unter den Sollwert und es erfolgt über das Steuergerät und die Bürette eine Zugabe von Titrant. Aus der Titrantzugabe pro Zeiteinheit (= Steigung der vom Schreiber aufgezeichneten Kurve) kann nach Eichung mit bekannten Gasgemischen die eingeleitete Menge "überschüssigen" CO_2 bestimmt werden. Weitere Einzelheiten werden in den folgenden Abschnitten beschrieben.

3. Verwendete Meßgeräte

Für die vorliegenden Versuche wurde die kombinierte Titrierausrüstung Typ TTT1c / SBR2c / ABU1b / TTA31 der Firma Radiometer Kopenhagen verwendet, als Elektroden die Glaselektrode Typ G2222C, Radiometer und die Kalomelektrode Typ K 101/3, ebenfalls Radiometer. Die Gerätekombination kann so zusammengeschaltet werden, daß sie eine Konstanterhaltung des pH in einem Titriergefäß durch automatische Zugabe von Titrant ermöglicht, wobei der Titrantverbrauch pro Zeiteinheit von dem Schreiber SBR2c registriert wird.

a. Der Titrator TTT1c

Der Titrator TTT1c ist ein Gerät zur automatischen Durchführung potentiometrischer Titrationen. Auf einer Meßskala wird das zwischen den Elektroden liegende Potential in mV oder pH-Einheiten angezeigt. Durch Verwendung des Scaleexpander PHA 630T läßt sich die Ablesegenauigkeit auf $\pm 0,002$ pH steigern. Mittels eines Drehknopfes kann die Glaselektrode mit einem bekannten Puffer geeicht werden. Für pH-Stat-Untersuchungen kann man an dem Gerät ein Sollpotential entsprechend der gewünschten H-Ionenkonzentration einstellen.

Auf die genaue Wirkungsweise des Gerätes braucht hier nicht eingegangen zu werden. Vereinfacht dargestellt wird das zwischen den Elektroden liegende Potential nach geeigneter Verstärkung mit einer dem Sollpotential entsprechenden Potentiometerspannung verglichen. Die Differenz zwischen der jeweiligen und der eingestellten Spannung wird "Fehler" genannt. Diese Fehlspannung gelangt zu einem Stromtor (Thyratron), dessen Anodenstrom direkt das Relais der Autobürette ABU1b betätigt. Die Schaltung

des Thyratronkreises bewirkt einen mittleren Zufluß des Titranten, der innerhalb eines bestimmten Bereiches der "Fehlervspannung" proportional ist. Dieser Bereich wird Proportionalbereich benannt. Er läßt sich bei dem verwendeten Gerät in 12 Stufen von 0 bis 5 pH variieren. Innerhalb des Proportionalbereiches wird das Reagens zur Probe additiv in Form kleiner Mengen zugegeben, wobei die einzelnen Portionen mit zunehmender Abweichung des Ist-Potentials vom Soll-Potential größer werden, bis bei der Potentialdifferenz, die der Einstellung des Proportionalbandes entspricht, eine maximale, dauernde Zugabe von Titrant erreicht wird. Bei den durchgeführten Untersuchungen wurde der Proportionalbereich 0,1 pH verwendet.

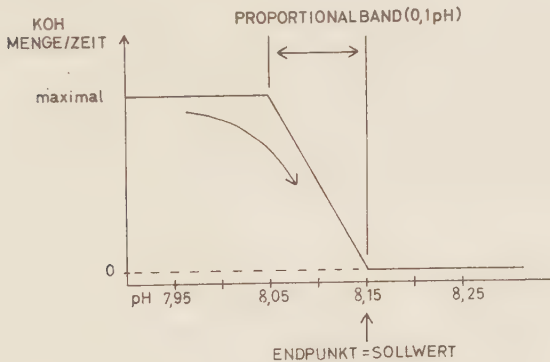


Abb. 3: Die proportionale Charakteristik zwischen Titrantenzufluß und Abweichung des Ist-pH vom Soll-pH. Nach Radiometer, Gebrauchsanweisung für EDT10. Für die bei den eigenen Untersuchungen vorliegenden Verhältnisse abgewandelt.

b. Die Autobürette ABU1b

Die Autobürette ABU1 ist eine Kolbenbürette, die auf dem Prinzip der Verdrängung beruht. Ihr Kolben wird über ein Getriebe von einem Elektromotor äußerst geringer Massenträgheit angetrieben; dadurch läuft letzterer schnell an und bleibt auch schnell wieder stehen. Ein Dreiwegehahn bewirkt, daß beim Vorschub des Kolbens Reagens dem Titriergefäß zugeführt wird, während beim Zurücklaufen Titrant aus dem Vorratsgefäß angesaugt wird. Die Menge des verbrauchten Titranten wird durch ein Zählwerk angezeigt. Der Kolben der ABU1b ist so bemessen, daß bei einer Füllung 0,25 ml Reagens verdrängt und dem Titrationsgefäß zugeführt werden. Die Laufgeschwindigkeit des Motors läßt sich in fünf Stufen regeln. Es wurde die empfohlene Geschwindigkeit (Speed 4) eingestellt. Die Impulse, die über eine Kabelverbindung vom TTT1c ankommen (s.o.), werden über ein Relais dem Motor zugeleitet, der entsprechend die Titrantzugabe vermittelt. Über eine Transmissionswelle kann die Bürette mit dem Schreiber SBR2c verbunden werden.

c. Der Schreiber SBR2c

Bei der vorliegenden Versuchsanordnung hatte der Schreiber die Aufgabe, den Titrantverbrauch pro Zeiteinheit zu registrieren. Das Registrierpapier ist so eingeteilt, daß man auf ihm die Menge des verbrauchten Titranten in % der Kapazität der Bürette ablesen kann. Die Papiergeschwindigkeit läßt sich in zahlreichen Stufen regulieren. Es wurden Geschwindigkeiten von 1 cm/min. und 0,5 cm/min. benützt.

4. Der Pumpteil

Um Eichungen mit Gasgemischen bekannter Konzentration an CO_2 vornehmen zu können, waren die Anforderungen an den Pumpteil sehr hoch. Einmal mußte die Pumpe mit niedrigen Fördergeschwindigkeiten arbeiten können, zwischen 5 und 30 ml/h. Ihre Ganggenauigkeit mußte möglichst hoch sein, da von ihr die Exaktheit der Eichung primär bestimmt wurde. Schließlich durfte sie nicht in merklichem Maße CO_2 absorbieren, da sich sonst die Konzentration des Eichgases änderte. Es bot sich eine sehr exakt arbeitende Flüssigkeitspumpe an, die für eine hydraulische Gasförderung verwendet wurde. (Miniflow-Pumpe 4500A, Präzisions-Mikropumpe, LKB Produkter AB, Stockholm, Schweden). Die Pumpe wird von einem Synchronmotor angetrieben und arbeitet mit zwei reziprok vorgeschobenen Glasschliffkolben. Die Pumpgeschwindigkeit läßt sich in 9 Stufen zwischen ca. 3 ml/h und ca. 50 ml/h regulieren. Die exakten Fördergeschwindigkeiten für Wasser wurden durch mehrmaliges Eichen mit einer 2 ml-Pipette und Stoppuhr ermittelt. Es ergaben sich ohne Gegendruck Schwankungen von maximal $\pm 0,02\%$, bei einem Gegendruck von 100 mmHg eine konstante Verminderung der Förderleistung um 1 %, entsprechend dem Leckverlust an den Glasschliffkolben.

Voraussetzung für ein einwandfreies Arbeiten der Pumpe war, daß sich keine Gasblasen oder Verunreinigungen in ihr befanden. Beides konnte dazu führen, daß eines der vier plangeschliffenen gläsernen Ventile nicht richtig abdichtete und so die Pumpleistung vermindert wurde.

Die Pumpe wurde zunächst demontiert, gereinigt und unter staubfreien Bedingungen wieder zusammengebaut. Ein Kieselgurfilter verhinderte ein Ansaugen von Verunreinigungen aus dem Vorratsgefäß. Das als Pumpflüssigkeit verwendete destillierte Wasser wurde durch Erhitzen entgast.

Von Zeit zu Zeit wurde die Pumpleistung nachkontrolliert.

Angabe am Gerät		wahre Förderleistung	
50	ml/h	48,3	ml/h
35	"	34,4	"
25	"	24,0	"
17	"	16,73	"
12,5	"	12,05	"
9	"	8,67	"
6	"	6,05	"
4,5	"	4,2	"

Tab. 2: Förderleistung der Miniflowpumpe für H_2O ,
ermittelt für einen Gegendruck von 50 mmHg.

Der Überdruck wurde folgendermaßen hergestellt:
Das obere, offene Ende der zum Eichen verwendeten Pipette wurde über eine Schlauchverbindung und ein Reduzierventil an die Preßluftleitung angeschlossen. Zur Messung des Überdruckes diente ein Quecksilbermanometer, der gewünschte Druck konnte mittels des Reduzierventils eingestellt werden.

Da es sich um eine Flüssigkeitspumpe handelte, konnte sie nur mittelbar zur Gasförderung herangezogen werden. Zunächst benutzte ich zur sekundären Gasförderung ein Verdrängungsgefäß, aus dem Gas, das sich in einem Gummiballon befand, durch Zuströmen von Wasser aus der Pumpe ausgetrieben wurde. Diese Anordnung konnte jedoch die Zusammensetzung des Eichgases nicht genügend konstant erhalten, da durch die Wand des Gummiballons CO_2 in das umgebende Wasser diffundierte. Als endgültige Lösung wurde eine Anordnung konstruiert, die die hydraulische Bewegung des Stempels einer 100 ml Glasspritze ermöglichte. Zur Abdichtung des Kolbens wurde Silikonfett verwendet. Der Druck im hydraulischen System betrug während des Betriebes zwischen 20 und 60 mmHg. Somit konnten Schwankungen der Förderleistung und somit der Gasströmungsgeschwindigkeit von maximal 0,4 % auftreten. ($\pm 0,2$ % um den aus der Förderleistung bei 0 mmHg und 100 mmHg Überdruck gemittelten Wert.)

Zum Füllen der Spritze mit Gas wurde nach Öffnen des Hahnes (Füllen) und Umtellung des Dreiwegehahnes auf "Gasmischpumpe" mittels einer weiteren Stempelspritze Hydraulikflüssigkeit abgesaugt, wodurch sich die Spritze mit Gas aus der Mischpumpe füllte. Wurde ein Gasgemisch anderer Konzentration eingefüllt, dann wurde die Spritze durch mehrmaliges Hin- und Herbewegen zunächst damit gespült.

Der Transport des Gases von der Spritze zur Diffusionskammer erfolgte über ein U-förmiges Glasrohr mit Schliffverbindung. Vor dem Anschluß der Diffusionskammer wurde der Dreiwegehahn so eingestellt, daß Gas von der Misch-

pumpe durch das Verbindungsrohr zwischen Hahn und Diffusionskammer strömte. Dann erst wurde die Kammer selbst und die Einströmkapillare angeschlossen. Dadurch konnte das in dem Zwischenstück befindliche Fremdgas (Raumluft) entfernt werden.

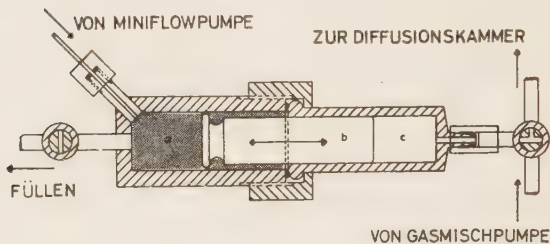


Abb. 4: Hydraulik zur Gasförderung.

a = Hydraulikflüssigkeit, b = Spritzenkolben,
c = Gas

5. Die Diffusionskammer

Um für spätere Meßarbeiten eine leicht zu bedienende Eichmöglichkeit zu haben, wurde eine doppelte Diffusionskammer konstruiert. Die eine sollte eine Membran mit bekanntem Diffusionswert enthalten, die andere die zu untersuchende Hautbarriere.

Die Anforderungen an die Kammer waren:

Absolute Dichtigkeit nach außen, die Möglichkeit, das Trägergas abwechselnd an der einen und an der anderen Membran vorbei zu leiten, sowie möglichst geringer Totraum im Sekundärsystem, um die Trägheit des Systems klein zu halten.

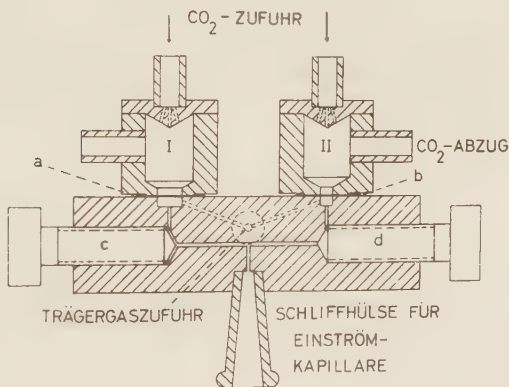


Abb. 5: Diffusionskammer

I = Diffusionskammer 4 mmØ

II = Diffusionskammer 2 mmØ

a, b, = eingespannte Membranen (z.B. Eichmembran und Barrierehautchen)

Durch Drehen der Schrauben c und d kann die Verbindung zur Einströmkapillare unterbrochen werden (ein kleines in der Mitte durchbohrtes Teflonplättchen sorgt für zuverlässige Abdichtung am Konus).

In der Abb. ist das Ventil C geöffnet, das Gas würde an Membran a vorbeiströmen.

Zur Messung der CO_2 -Diffusion wird reines, gasförmiges CO_2 über die Primärseite der jeweils eingeschalteten Membran geleitet, nach Beendigung des Versuches wird mit Preßluft gespült.

Als Material wurde Polyacrylharz verwendet, zur Abdichtung der Schraubengewinde Teflon-band. Direkt an die Diffusionskammer wurde über eine Glasschliffverbindung eine Kapillare angeschlossen, die das Gas in das Titriergefäß leitete.

6. Das Titriergefäß

Als Titriergefäß wurde die Ausrüstung TTA31 von Radiometer verwendet. Es wird nach oben durch den Elektrodenhalter verschlossen. Das Gefäß kann durch einen an den Thermostaten angeschlossenen Wassermantel auf konstanter Temperatur gehalten werden, im vorliegenden Fall wurde der Thermostat auf 20°C eingestellt. Ein kleiner Magnetrührer ermöglicht das so wesentliche gründliche Durchrühren der Lösung im Titriergefäß. Bei der geringen Pufferwirkung der verwendeten Bikarbonatlösung war es wichtig, daß der Rührer sehr gleichmäßig lief. Durch das Umrühren bildet sich ein Strömungspotential zwischen den Elektroden aus, das von der Rührgeschwindigkeit abhängig ist. Jedenfalls zeigten sich erhebliche Schwankungen des Elektrodenpotentials (als Schwingungen), wenn der Rührer unruhig lief. Deswegen konnte nur ein gut ausgewuchtetes Rührplättchen verwendet werden, das bei der höchsten Rühr-

geschwindigkeit dann sehr gleichmäßig lief. So konnten die Potentialschwankungen, die sich bei stärker gepufferten Lösungen kaum bemerkbar machen, auf ein erträgliches Maß herabgesetzt werden ($\pm 0,02 \text{ pH}$).

Für das Titrationsgefäß stellten sich bei den Versuchen zwei Probleme:

1. mußte das Innere des Gefäßes ausreichend gegen die Umgebung abgedichtet sein. Bei den zu messenden geringen CO_2 -Mengen bewirken bereits geringe Einflüsse durch die Außenluft erhebliche Fehler. Zur Abdichtung wurden Silicongummischlauchstücke über die Elektroden gezogen, so daß diese satt in den Bohrungen der Halterung saßen.
2. wurde das in die Bikarbonatlösung eingeleitete CO_2 dort nicht quantitativ absorbiert, sondern es entwich ein kleiner Teil davon in den überstehenden Totraum. Somit sammelte sich über dem Flüssigkeitsspiegel CO_2 , das wiederum in die Bikarbonatlösung diffundierte. Es dauerte dadurch sehr lange, bis sich ein konstanter Titrationswert einstellte. Eine Verkleinerung des Totraumes brachte keine befriedigenden Ergebnisse. Erst als durch Tiefersetzen der Einströmkapillare (s.u.) eine bessere Ausbeute an CO_2 erzielt wurde, war es möglich, durch Anblasen der Lösungsoberfläche mit einem langsamen Strom Aquilibrationsluft die Verhältnisse konstant zu erhalten. (Siehe auch Abb 2: Belüftung - Entlüftung). Dadurch konnte die Trägheit des Systems bedeutend gesenkt werden.

Besonderer Aufmerksamkeit bedurfte auch der Elektrodenhalter. Er mußte peinlich sauber gehalten werden, da andernfalls das Elektrodenpotential instabil wurde.

Er wurde von Zeit zu Zeit mit RBS^R gereinigt.

7. Die Einströmkapillare

Als Einströmkapillare diente eine Glaskapillare mit der Bohrung 0,05 mm. Sie wurde zunächst so angeordnet, daß sie etwa 1 cm in die Bikarbonatlösung eintauchte. Dabei bildeten sich Blasen von 12 μ l Größe, die durchschnittlich 2/10 sec für den Weg durch die Lösung benötigten. Es zeigte sich jedoch, daß so die Ausbeute des in Lösung gehenden CO₂ nur einen geringen Teil der Gesamtmenge des "überschüssigen" CO₂ ausmachte. Die Verwendung einer dünneren Kapillare war nicht möglich, da andernfalls der zu überwindende Kapillardruck im Sekundärsystem zu groß geworden wäre. Er betrug bei Verwendung der 0,05 Kapillare etwa 7,5 cm H₂O. So wurde die Kapillare so tief gesetzt, daß die untere Öffnung etwa 1/2 mm über den Noppen des Magnetrührers stand. Die Noppen zerschlugen die Blasen zu einer Größe von 0,8 μ l bei einer Einleitgeschwindigkeit von 6 ml/h. Die Verweildauer der Blasen wurde mit durchschnittlich 2sec gemessen. Die CO₂-Ausbeute stieg dadurch auf etwa das doppelte des sonst unter optimalen Bedingungen erreichten Wertes. (Berechnungen s. S. 49)

Sicher spielte die Verweildauer der Gasblasen in der Flüssigkeit dabei die wichtigste Rolle. Kleinere Blasen haben einen geringeren Auftrieb im Verhältnis zu ihrem Fortbewegungswiderstand. Auch dürfte sich die im Vergleich zum Volumen größere Oberfläche günstig für die CO₂-Ausbeute auswirken. Nachteilig zeigte sich

bei dieser Anordnung, daß die Blasengröße und somit die CO_2 -Ausbeute abhängig von der Einleitungsgeschwindigkeit des Gases wurde. Daraus folgte eine gewisse Verringerung der Ausbeute bei zunehmender Einleitgeschwindigkeit, auch konnte eine selbst geringfügige Veränderung der Stellung der Einströmkapillare oder des Rührplättchens zu einer Veränderung der Blasengröße mit verminderter Ausbeute führen. (Siehe auch Abbildung 8 und 10)

Die Einströmkapillare wurde durch Einpressen eines Polyäthylenschlauchstückes in die Bohrung des Elektrodenhalters fixiert, außerdem wurde darauf geachtet, daß die Stellung des äußeren Teiles des Magnetrührers während eines Versuches nicht verändert wurde.

Ein weiterer Nachteil war, daß sich die kleinen Bläschen am Rührplättchen und an der Bürettenspitze festsetzten, was zu Unregelmäßigkeiten im Titrationskurvenlauf führte. Sie zu beseitigen, wurde der Bikarbonatlösung eine geringe Menge chemisch neutralen Detergens zugesetzt.

LEITHE (31) gab bei einem von ihm beschriebenen Verfahren n-Butanol als Schaummittel zu und erreichte damit eine CO_2 -Ausbeute in Lauge von 100 %. Der Verfasser verwendete Polyäthylenglykolmonolauryläther (Brij 35^R). Bei den anschließenden Eichversuchen ergab sich jedoch eine äußerst schlechte Reproduzierbarkeit der Werte. Die Kurven zeigten regelrechte Knicke. Die genaue Beobachtung führte zu folgendem Ergebnis: das Detergens ließ zu Beginn eines Versuches an der Lösungsoberfläche eine Schaumschicht entstehen. Nach einiger Zeit (und Zugabe von Titrant) begann die Schaumbildung abzunehmen und hörte dann ganz auf. Dies machte sich durch mehrere deutliche Knicke im Kurvenverlauf bemerkbar. Für die weiteren Versuche wurde

dann eine Bikarbonatlösung verwendet, der nur Spuren von Detergens zugesetzt waren, so daß es von Anfang an zu keiner Schaumbildung kommen konnte. Die Menge reichte jedoch aus, um ein Haften der Bläschen zu verhindern.

8. Die Bikarbonatlösung

Die Bikarbonatlösung wurde durch Einwiegen von NaHCO_3 in Aqua dest. hergestellt. Über die grundsätzlichen Überlegungen siehe Seite 21. Die günstigste Konzentration von 100 mg/l wurde empirisch durch eine Verdünnungsreihe ermittelt. Nach Äquilibrierung mit 340 ppm CO_2 (Preßluft) wurde der jeweilige pH bestimmt. Bei der Konzentration von 100 mg/l (= 1,2 mmol/l) betrug dieser 8,15, lag also in dem Bereich der schlechten Pufferung. Um zu verhindern, daß die Außenluft einen zu großen Einfluß auf den Ausgangs-pH ausübte, wurde die fertige Lösung in eine Bürette als Vorratsgefäß gefüllt, deren obere Öffnung durch einen dickwandigen Gummiballon von der Umgebung abgeschirmt war. Für einen Versuch wurden jeweils 2 ml der Lösung in das zuvor gereinigte und ausgetrocknete Titriergefäß eingefüllt. Die Genauigkeit der Einfüllmenge übte keinen Einfluß auf die Versuchsergebnisse aus.

9. Der Titrant

Als Titrant wurde verdünnte KOH verwendet. Die Wahl der Konzentration war u.a. durch folgende Überlegungen be-

stimmt:

Bei der Füllung des Titriergefäßes mit 2 ml Bikarbonatlösung verursacht die Zugabe von 0,25 ml - 1 Bürettenfüllung Titrant und mehr noch die wiederholte Zugabe u.U. eine erhebliche Verdünnung der Ausgangslösung.

Dies läßt sich vermeiden, wenn die molare Konzentration des Titranten in etwa derjenigen der Bikarbonatlösung entspricht. Durch die Reaktion mit CO_2 ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{OH}^- \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$) bleibt so die Molarität erhalten. Für die Versuche wurde zunächst n 1/500 KOH verwendet, später 1/1000. (Molarität der Bikarbonatlösung 1/840).

Damit konnte - auch bei Zugabe von mehreren Bürettenfüllungen - eine gleichbleibende Proportionalität zwischen Verbrauch an Titrant und pCO_2 des zu untersuchenden Gases erreicht werden. Die KOH wurde mit heißem Leitfähigkeitswasser angesetzt.

Bei den niedrigen Konzentrationen ist es schwierig, den pH konstant zu erhalten. Vor allem während eines Versuches dürfe er sich auf keinen Fall ändern. Ein Unterschied von 0,01 pH entspricht bereits einem Fehler von 3% ! Ein vorgeschalteter Natronasbestabsorber hielt die Vorratsflasche für den Titranten frei von CO_2 aus der Raumluft. Der Ansaugeschlauch der Bürette wurde dicht an die Vorratsflasche angeschlossen. Um zu vermeiden, daß Kohlendioxyd aus der Umgebung durch die beiden Polyäthylenschläuche der Bürette an den Titranten gelangte, umgab ich diese mit dickeren Gummischläuchen. Der Zwischenraum wurde mit KOH in dem Titrant entsprechender Verdünnung gefüllt.

Zuvor hatte ich versucht, die Polyäthylenschläuche auf ihre CO_2 -Durchlässigkeit zu prüfen. Durch längeres

Anblasen der Schläuche mit CO_2 konnte keine signifikante Änderung des pH der KOH festgestellt werden, möglicherweise wegen der langen Latenzzeit, die das Kohlendioxyd für die Permeation durch dickere Schichten benötigt. Eine andere Beobachtung wies jedoch darauf hin, daß CO_2 aus der Raumluft durch die Schlauchwanderung in den Titranten gelangte: stand das Gerät einige Tage unbenützt, sank der Säurewert der KOH im Schlauchsystem um bis zu 0,1 pH. Wurde das Schlauchsystem nun mehrmals durchgespült und der Säurewert der nunmehr aus dem Vorratsgefäß stammenden KOH gemessen, war der alte Wert wieder erreicht. Als Vorsichtsmaßnahme wurde daraufhin - neben der beschriebenen Abschirmung - das gesamte Schlauchsystem mehrfach mit Titrant aus den Vorratsgefäßen durchgespült, wenn das Gerät längere Zeit nicht benützt worden war.

Durch diese Maßnahmen konnten die zuvor unbefriedigenden Ergebnisse ausreichend reproduzierbar gestaltet werden. Die Veränderung der KOH, die sich im Laufe von Tagen und Wochen durch die Eigenschaften der gläsernen Reservoirflasche einstellten, fielen für die vorliegenden Versuche nicht ins Gewicht.

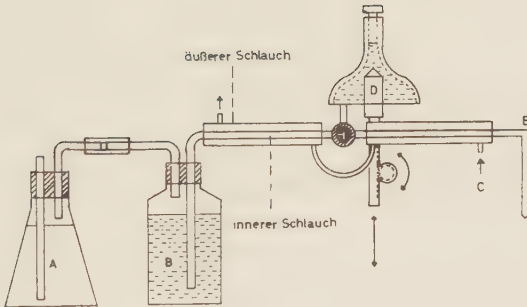


Abb. 6: Aufbewahrung und Förderung des Titranten:

A = Natronasbestabsorber

B = KOH (Titrant)

D = Bürettenkolben

E = Bürettenspitze

Bei C wurde die zur Abschirmung dienende KOH
in das äußere Schlauchsystem eingefüllt.

10. Verwendete Gasgemische

Um genaue Bezugswerte zu haben, waren in ihrem Kohlen-
dioxidgehalt genau eingestellte Gasgemische erforderlich.

Es wurden verwendet:

1. Preßluft mit CO_2 -Gehalt 340 ppM; diese diente zum Äquilibrieren der Bikarbonatlösung, als Trägergas bei einigen Vorversuchen und zur Belüftung des Titrationsgefäßes während der Versuche.

2. Luft- CO_2 -Gemisch 2000 ppM. Es handelte sich um ein genau eingestelltes und analysiertes Gasgemisch, das unter Druck in eine Stahlflasche gefüllt war. Es wurde als Oberwert zum Eichern verwendet.

3. Durch eine exakte Gasmischpumpe (Typ Na 27/2a Fa. Wösthoff) wurde aus 1. und 2. eine Mischung 1:1 hergestellt, deren Kohlendioxydgehalt 500 ppM (genau 506 ppM) betrug; sie diente als Unter- bzw. Nullwert bei den Eich- und Meßversuchen.

11. Arbeitsweise der Apparatur und Bedienung

An dieser Stelle soll auf die genaue Arbeitsweise und das Vorgehen bei der Bedienung der Apparatur eingegangen werden. Vorbedingung zur Durchführung von Versuchen waren: Die Elektroden und Meßgeräte mußten betriebsbereit sein, Autobürette und Vorratsgefäß mit Titrant, die Vorratsbürette mit äquilibrierter Bikarbonatlösung gefüllt sein, sowie der Thermostat laufen (20°).

In Abständen von einigen Tagen wurde zunächst die Glaselektrode mit bekanntem Puffer geeicht. Dann wurde die Glasspritze mit Trägergas (340 ppM bzw. 500 ppM) oder - bei Eichversuchen - mit Gasgemischen höheren CO_2 -Gehaltes gefüllt. In die Diffusionskammer wurde die zu untersuchende Membran eingespannt, bei den Eichversuchen die Eichmembran, bei den späteren Versuchen zusätzlich das

Barrierehäutchen. Daraufhin wurde die Diffusionskammer mit den auf Seite 29 beschriebenen Vorsichtsmaßnahmen mit dem Pumpenteil und der Einströmkapillare verbunden, dann wurde das zuvor ausgetrocknete Titrationsgefäß mit 2 ml Bikarbonatlösung gefüllt und über die Oberfläche ein langsamer Strom bei 20°C mit Wasserdampf gesättigter Preßluft (340 ppM) geleitet. Die untere Öffnung der Einströmkapillare wurde in der oben beschriebenen Weise dicht über die Noppen des Rührplättchens geführt und der Rührmotor eingeschaltet.

Nachdem sich der den Gleichgewichtsverhältnissen und der pH-Stat-Sollwerteneinstellung am TTT1 entsprechende pH von ungefähr 8,15 eingestellt hatte, konnte der Versuch beginnen. Das weitere Vorgehen war bei den Eich- und den Meßversuchen etwas verschieden. (s.u.)

Durch Einschalten der Mikropumpe strömte das Gas aus der Kolbenspritze durch die jeweils eingeschaltete Diffusionskammer und die Kapillare in das Titriergefäß. War der $p\text{CO}_2$ des eingeleiteten Gases höher als 340 ppM, sank der pH der Bikarbonatlösung, was durch die pH-Stat-Schaltung zur Zugabe von KOH führte. Der Schreiber registrierte den Verbrauch an KOH pro Zeiteinheit. Aus der Steigerung der Kurven - bei konstantem CO_2 -Gehalt des eingeleiteten Gases Gerade - wurden die entsprechenden Meß- und Eichergebnisse ermittelt. Die Steigerung wurde durch Anlegen eines Winkelmessers gegen die Zeitachse gemessen. Den Diffusionswert der in die jeweils eingeschaltete Kammer eingespannten Membran bekam man durch Überleiten von reinem CO_2 auf der Primärseite. Die Diffusion wurde dadurch beendet, daß die CO_2 -Zufuhr

unterbrochen und das restliche Kohlendioxyd mit Preßluft aus der Kammer entfernt wurde.

Das durch die Membran diffundierte Kohlendioxyd wurde von dem auf der Sekundärseite strömenden Gas aufgenommen und dem Titrationsgefäß zugeführt, wo es auf die oben angeführte Weise titriert wurde.

III. Versuch zur Entwicklung und Prüfung der Methodik

Zur Erläuterung der im vorangehenden schon beschriebenen Entwicklung der Methodik bis zur brauchbaren Versuchsanordnung, möchte ich aus der Vielzahl der Vorversuche einige auswählen, die für die grundsätzliche Anwendbarkeit und die Weiterentwicklung der Methodik von Bedeutung waren.

Voraussetzung für die Brauchbarkeit der Methode waren:

1. Lineare oder wenigstens reproduzierbare Beziehung zwischen eingeleiteter Menge "überschüssigen CO_2 " und Titrantverbrauch.
2. Gleichbleibende Empfindlichkeit und Nullwertbedingungen bei Zugabe von Titrant.
3. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

1. Zur Beziehung zwischen CO_2 -Menge und Titrantverbrauch:

Um die Beziehung zwischen der zu messenden Kohlendioxydmenge und dem Titrantverbrauch nachzuweisen, wurden verschiedene Versuche unternommen:

a) Einleiten von Gas mit bekanntem CO_2 -Gehalt (Eichgas 2000 ppM) mit veränderlicher Geschwindigkeit. Bei 1 cm eintauchender Einströmkapillare konnte eine lineare Beziehung zwischen Gasgeschwindigkeit und Titrantverbrauch gefunden werden (s. Abb. 7) Bei der Anordnung der Kapillare über den Noppen des Rührers nahm der Titrationswert mit zunehmender Gasgeschwindigkeit etwas ab (s. Abb. 8 und 9).

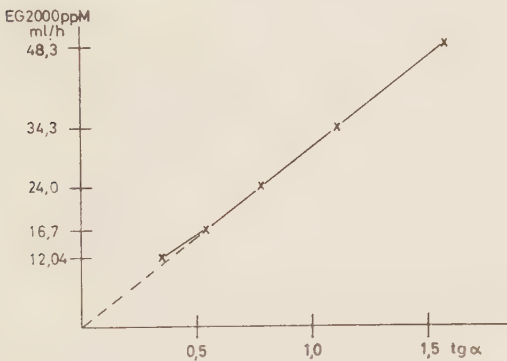


Abb. 7: Versuch: EV 12

Kapillare 1 cm eintauchend.

Eichgas 2000 ppM $\hat{=}$ 1660 ppM CO_2 -Überschuß

Gasgeschwindigkeit 12,04 - 48,3 ml/h
Papiergeschwindigkeit 0,5 cm/min;;
Titrant = KOH n/500
 $\text{tg } \alpha$ = Steigung der Titrationskurve
 $\text{tg } 45^\circ = 1,0$ entspricht einem Titrantverbrauch
von 0,15 ml/h.

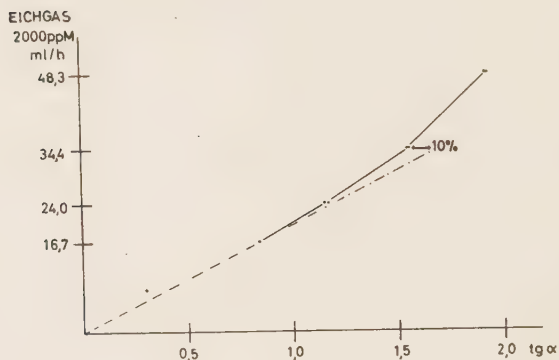


Abb. 8: Versuch: EV VII
Kapillare über den Rührernoppen. Eichgas
2000 ppM w.o.
Gasgeschwindigkeit 16,7 - 48,3 ml/h
Papiergeschwindigkeit 1 cm/min; KOH n/500
 $\text{tg } 45^\circ \triangleq 0,3$ ml Titrantverbrauch/h
Abnahme der CO_2 -Ausbeute zwischen 16 und 34 ml/h
beträgt 10 %

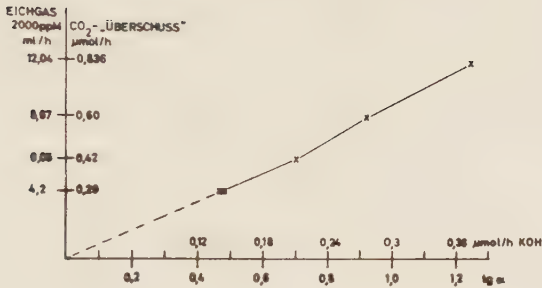


Abb. 9: Versuch D

Kapillare über den Noppen, Eichgas 2000 ppm
 Gasgeschwindigkeit 4,2 - 12,04 ml/h
 Zur besseren Verständlichkeit des Begriffes
 "Ausbeute" werden "überschüssiges" CO₂ und
 Titrantverbrauch auch in μMol umgerechnet ange-
 geben.

Es zeigt sich, daß bei langsamen Einleitge-
 schwindigkeiten eine geringere Verminderung
 der Ausbeute erfolgt.

b) Titration bei gleichbleibender absoluter Menge
 "überschüssigen" CO₂, eingeleitet mit veränderlicher
 Trägergasgeschwindigkeit. Dazu wurde das bei konstanter

CO_2 -Druckdifferenz durch eine künstliche Membran permeierende Kohlendioxyd mit Preßluft ($340 \text{ ppm} \hat{=} p\text{CO}_2$ der Bikarbonatlösung) als Trägergas dem Titrationsgefäß zugeführt.

Dabei zeigt sich, daß bei 1 cm eintauchender Kapillare der Titrationswert von der Einleitungsgeschwindigkeit unabhängig war, bei der tiefen Anordnung jedoch mit zunehmender Geschwindigkeit niedriger wurde (Abb. 10)

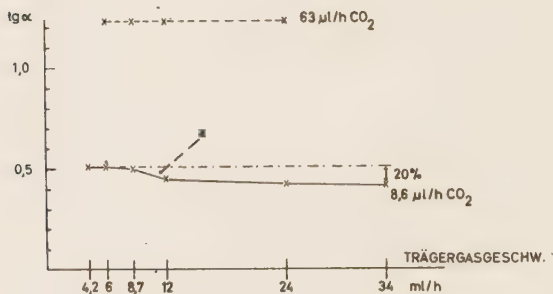


Abb. 10: Gleichbleibende Menge "überschüssigen" CO_2 , eingeleitet mit veränderlicher Trägergasgeschwindigkeit.

Versuch 2 und 3.

Versuch A und C.

$63 \mu\text{l/h}$ wurden mit 1 cm eintauchender Kapillare eingeleitet (Vers. 2 und 3),

$8,6 \mu\text{l/h}$ mit über den Noppen sitzender Kapillare.

Zu Abb. 10: Bei a wurde die Stellung der Einströmkapillare geringfügig verändert, woraus sich sofort eine Verminderung der Ausbeute ergab. Gesamte Verminderung der Ausbeute zwischen 4,2 und 34,3 ml/h beträgt 20 % des bei 4,2 ml erreichten Wertes.

Beurteilung der auf Abb. 7 und 10 dargestellten Versuche:

Bei 1 cm einsteckender Kapillarenöffnung ist die lineare Beziehung zwischen der zugeführten Menge "überschüssigen" CO_2 und Titrantverbrauch klar ersichtlich. (Abb. 7) Auch zeigt sich, daß unter diesen Bedingungen nur die absolute Menge "überschüssigen" CO_2 für den Titrantverbrauch entscheidend ist, und keine Abhängigkeit besteht von dem Gasvolumen, mit dem es eingeleitet wird. Daraus folgt bei gleichbleibender Trägersauggeschwindigkeit:

$$\frac{\text{Titrantverbrauch}}{\text{Zeit}} = \text{Konstante} \times (p\text{CO}_2 \text{ Gas} - p\text{CO}_2 \text{ Bierrb.})$$

Die Verminderung des Titrationsäquivalentes durch zunehmende Gasgeschwindigkeit bei der tiefen Anordnung der Einströmkapillare ist dadurch bedingt, daß dabei die Gasbläschen größer werden und so sich die Gas-Fläche vergrößert (siehe auch Seite 34)

Bei gleichbleibender Geschwindigkeit entfällt dieser Faktor jedoch, so daß auch unter diesen Bedingungen die oben dargestellte lineare Beziehung zwischen CO_2 -Partialdruckdifferenz und Titrantverbrauch besteht. Auch die Veränderung der CO_2 -Ausbeute durch Veränderung der Stellung der Einströmkapillare wurde schon auf Seite 34 erwähnt.

2. Zur gleichbleibenden Empfindlichkeit bei Zugabe von Titrant:

Die gleichbleibende Empfindlichkeit und Nullwertbedingung bei Zugabe von Titrant (s. auch Seite 37) konnte in zahlreichen Versuchen nachgewiesen werden. Sie ist auch aus Abb. 10 ersichtlich; während der Versuche 2 und 3 betrug der Verbrauch von Titrant jeweils über 0,5 ml, es wurde jeweils zweimal eine ganze Bürettenfüllung zugeführt.

3. Zur Reproduzierbarkeit der Ergebnisse:

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, die lange Zeit unbefriedigend war, konnte durch die Verbesserung der Versuchsanordnung - bessere Abschirmung des Titranten und des Titrationsgefäßes von Umwelteinflüssen, Verbesserung der Ausbeute u.a., - auf ein Maß gebracht werden, das den berechenbaren Fehlerquellen entsprach. Auf die Darstellung von Versuchen sei hier verzichtet, die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist aus den Eichversuchen zu ersehen.

4. Zur CO_2 -Ausbeute und zur Trägheit des Systems:

Wie schon erwähnt, war die Ausbeute an CO_2 nicht quantitativ. Quantitativ würde unter den Versuchsbedingungen bedeuten:

$$\text{Mol verbrauchter Titrant} = \frac{98}{100} \text{ Mol zu titrierendes } \text{CO}_2$$

(bei pH 8,15 liegt etwa 98 % des CO_2 als HCO_3^- vor)

Tatsächlich betrug der Titrantverbrauch jedoch weniger. Besonders schlecht war die Ausbeute bei der zunächst erprobten Anordnung, bei der die Einstörmkapillare etwa 1 cm eintauchte. Die einzelnen Blasen waren dabei etwa 12 μl groß, ihr Weg durch die Lösung bis zur Oberfläche dauerte durchschnittlich 2/10 sec. Der CO_2 -Anteil, der auf diesem Weg primär in die Lösung übergang, war nur gering. Er wurde aus der Anfangssteigung der Titrationskurven und in einem Versuch bestimmt, bei dem Preßluft zur "Spülung" über die Oberfläche der Bikarbonatlösung strömte. Der Titrantverbrauch betrug unter diesen Bedingungen bei Einleiten von 2,8 $\mu\text{Mol CO}_2$ pro Stunde nur 0,14 $\mu\text{Mol/h KOH}$, d.h. es wurden nur 5 % des zugeführten Kohlendioxyds titriert. Der Rest ging in den überstehenden Totraum und diffundierte von dort in die Lösung oder entwich aus dem Gefäß. Durch diese Rückdiffusion wurden etwa weitere 5 % der Bikarbonatlösung zugeführt. Ein konstanter Wert stellte sich jedoch erst nach 10 - 14 Minuten ein, und ebenso lange dauerte die Nachtitration.

Durch Verkleinerung des Totraumes mittels eines PVC-Einsatzes konnte diese Zeit auf die Hälfte verkürzt werden,

außerdem stieg die Ausbeute auf rund 15 %. Die Versuchsergebnisse waren jedoch unbefriedigend wegen schlechter Reproduzierbarkeit und großen Zeitaufwandes.

Nach Veränderung der Höhe der Einstromkapillare stieg die primäre Ausbeute auf über 40 %, d.h. über 40 % des "überschüssigen" CO_2 ging bereits auf dem Wege durch die Lösung in diese über.

So war es möglich, auf den aus dem überstehenden Totraum in die Lösung diffundierenden Anteil zu verzichten und ihn durch Belüftung mit Preßluft 340 ppm zu entfernen. Dadurch ergaben sich besser reproduzierbare Verhältnisse, die Belüftung führte zusätzlich zu einer besseren Abschirmung des Titrationsgefäßes gegen die Umgebungsluft. Außerdem verringerte sich die Latenzzeit bis zum Erreichen eines konstanten Titrationswertes auf 1 Min., was eine erhebliche Verkürzung der Versuchszeit bedeutete. Ferner konnte die Papiergeschwindigkeit bei der Registrierung auf 1 cm/min verdoppelt werden, was sich ebenfalls günstig auf die Versuchsdauer auswirkte. (Zur genauen Bestimmung der Steigung der Titrationskurven mußten Gerade von wenigstens 6 - 7 cm gefordert werden.)

Als Beispiel zur Berechnung der Ausbeute sei Versuch D von Abb. 9 angeführt:

Versuchsbedingungen:

NaHCO_3 mit Preßluft 340 ppm äquilibriert, pH 8,15
Eichgas 2000 ppm wird mit veränderlicher Geschwindigkeit eingeleitet,

Papiergeschwindigkeit 0,5 cm/min.

Da der pCO_2 der Bikarbonatlösung 340 ppm beträgt, besteht eine Partialdruckdifferenz von 1660 ppm.

Bei der Geschwindigkeit 6,05 ml/h werden also
 $6,05 \cdot 1660 \cdot 10^{-6}$ ml/h "überschüssiges" Kohlendioxyd
in das Titriergefäß eingeleitet;
auf Mol umgerechnet (Molvolumen bei 20°C = 23,9 Mol/l):

$$\begin{aligned} & 6,05 \text{ ml/h (} 1660 \text{ ppm) } \triangleq \\ & \triangleq \frac{6,05 \cdot 1660 \cdot 10^{-6}}{23,9} \text{ (mMol/h) } = \\ & = 0,42 \mu\text{Mol/h} \end{aligned}$$

Die Steigung der Titrationskurve beträgt dabei $\text{tg } 35^\circ =$
 $= 0,700$.

$\text{tg } 45^\circ = 1,0$ entspricht bei einer Papiergeschwindigkeit
von 0,5 cm/min einem Titrantverbrauch von 0,15 ml/h.

Bei Verwendung von KOH n/500 sind das 0,3 $\mu\text{Mol/h}$

$$\begin{aligned} \text{tg } 45^\circ &= 1,0 \triangleq 0,3 \mu\text{Mol/h} \\ \text{tg } 35^\circ &= 0,7 \triangleq 0,21 \mu\text{Mol/h}; \end{aligned}$$

Es werden also 0,42 $\mu\text{Mol/h}$ CO₂ zugeführt, jedoch nur
0,21 $\mu\text{Mol/h}$ Titrant verbraucht; die Ausbeute beträgt
also 50 %.

Bei höheren Gasgeschwindigkeiten war die CO₂-Ausbeute
geringer (s.o.), bei den späteren Eich- und Meßversuchen,
bei denen mit einer Gasgeschwindigkeit von 24 ml/h ge-
arbeitet wurde, betrug sie etwa 40 %.

IV. Eichversuche:

Nachdem die lineare Beziehung zwischen Kohlendioxydmenge und Titrantverbrauch nachgewiesen war, mußte eine entsprechende Eichung der Versuchsanordnung vorgenommen werden. Eine einmalige Bestimmung des "Proportionalitätsfaktors" zwischen Titrantverbrauch und titriertem CO_2 war als Eichbezugswert nicht möglich: wie schon im Abschnitt "Der Titrant" (Seite 36) ausgeführt, war der pH der als Titrant verwendeten stark verdünnten KOH nicht ausreichend konstant, vor allem über längere Zeiträume. Während eines Versuches durfte er sich natürlich nicht ändern, andernfalls gab es Bogen- oder Knickbildungen in den sonst geraden Titrationskurven, die zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen führten. Es mußte also bei jedem Versuch der Meßwert mit bekannten Eichwerten verglichen werden. Da eine lineare Beziehung bestand, genügten der Nullwert und ein Eichwert.

Der Austausch des Gasgemisches im Pumpsystem durch ein solches anderer Konzentration bedeutete jeweils einen ziemlichen Zeitaufwand, da sämtliche Glasschliffverbindungen gelöst und anschließend das ganze System mit dem neuen Gasgemisch gespült werden mußten, bis der Versuch weiterlaufen konnte. Als Arbeitseichwert bewährte sich der zuvor mit Gasgemischen verschiedener Konzentration ermittelte Diffusionswert einer künstlichen Membran.

Somit bestanden die Bemühungen um ein praktikables Eichverfahren in der Suche nach einer geeigneten Membran und der Bestimmung des Diffusionswertes derselben.

Es wurden verschiedene Materialien untersucht:

1. Latexmembran
2. Polyäthylenfolie, dünn (handelsübliches Verpackungsmaterial etwa 0,04 mm dick)
3. Teflonfolie, dick.

Genauere Untersuchungen über die Dicke der Membranen wurden nicht vorgenommen, da sie nicht als Versuchsobjekte dienen sollten, sondern nur als Vergleichsmembranen.

Der Vorgang bei den Eichversuchen war folgendermaßen: Neben den übrigen Vorbereitungen wurde die Kolbenspritze mit dem "Eichgas" 2000 ppM gefüllt und das übrige gasführende System einschließlich der Diffusionskammer damit durchströmt. Dann wurde die Einströmkapillare angeschlossen und das Eichgas mit einer bestimmten Geschwindigkeit eingeleitet. Nachdem eine ausreichend lange Titrationskurve geschrieben war, wurde die Pumpe abgeschaltet und das Gas durch ein Gemisch mit 500 ppM CO₂ ersetzt. Dieses wurde mit der gleichen Geschwindigkeit v dem Titrationsgefäß zugeführt und die entsprechende Kurve aufgezeichnet. Dann wurde CO₂ über die zu untersuchende Membran geleitet und wiederum der entsprechende Wert registriert.

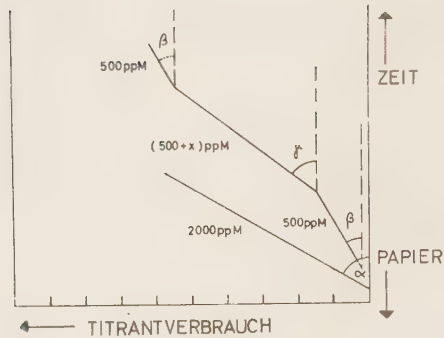


Abb. 11: Schematische Darstellung der Titrationskurven bei einem Eichversuch.

Berechnung:

Eichgas 2000 ppM	$\hat{=}$ tg α
Eichgas 500 ppM	$\hat{=}$ tg β
500 ppM + Membranwert	$\hat{=}$ tg γ
tg α - tg β	$\hat{=}$ 1500 ppM
tg γ - tg β	$\hat{=}$ x ppM
x ppM = Erhöhung des pCO ₂ durch das diffundierte CO ₂	

Multipliziert man den gefundenen Wert in ppM mit der Gasgeschwindigkeit, erhält man die Menge CO_2 , die pro Zeiteinheit durch die Membran diffundierte:

$$x \text{ (ppM)} \cdot v \text{ (ml/h)} = x \cdot 10^{-6} \cdot v \text{ (ml/h)} \text{ CO}_2$$

Die Verwendung eines Gasgemisches als Unter- und Eichwert, dessen Kohlensäurepartialdruck höher als der der Bikarbonatlösung war, hatte folgenden Vorteil:

Der untere Eichwert wurde durch eine Titrationskurve dargestellt, die Eichspanne war genau definiert (2000 - 1500 ppM) und unabhängig vom pCO_2 der Bikarbonatlösung.

Bei der Durchführung von Diffusionsmessungen ergab sich noch ein weiterer, wichtiger Gesichtspunkt, als Trägergas (Nullwert) das Gasgemisch 500 ppM einzusetzen. Aus einigen Versuchen ergeben sich Hinweise, daß eine gewisse Mindestmenge an überschüssigem CO_2 vorhanden sein mußte, bis der Titrator ansprach. Somit hätten sich bei sehr kleinen Meßwerten Ungenauigkeiten ergeben, wenn als Trägergas Preßluft 340 ppM und als Nullwert die Nulltitration verwendet worden wären.

Es wurden folgende Werte gefunden:

Versuch		Material	Ø	CO ₂ -Fluß µl/h
Eichversuch 12		Latex	2 mm	62,5
"	IV	"	"	62,9
"	V	"	"	63,3
"	VI	"	"	63,5
"	VIII	Teflon	4 mm	2,8
Meßversuch 2	EM _O	Polyäthylen	"	31,3 2,3)
"	3 EM _O	"	"	31,4 2,3)
Eichversuch X	EM _I	"	2 mm	10,2 3)
"	XI EM _I	"	"	10,25 3)
"	XII EM _{II}	"	"	8,65 3)
"	XIII EM _{II}	"	"	8,55 3)
"	XIV EM _{II}	"	"	8,55 3)

Anmerkungen s. S. 57

Tab. 3: Ergebnisse der Eichversuche.

- Anmerkung:
- 1) Eichversuch 12 wurde noch mit 1 cm eintauchender Kapillare und anderer Technik vorgenommen.
 - 2) In MV 2 wurde der Diffusionswert der Polyäthylenmembran durch Vergleich mit der Latexmembran ermittelt, (Wert mit 63,2 $\mu\text{l/h}$ eingesetzt), in MV 3 mit der Eichgas-methode.
 - 3) EM_0 , EM_I , EM_{II} , entsprechen verschiedenen Stücken einer nicht-gleichmäßig ausgewalzten und zudem schon gebrauchten Polyäthylenfolie, die als Verpackungsmaterial diente, daher die unterschiedlichen Diffusionszahlen.

Durch Vergleich mit den Diffusionswerten der menschlichen Hautbarriere erwies sich die Polyäthylenfolie bei 2 mm Durchmesser als günstige Eichmembran.

V. Genauigkeit und Empfindlichkeit der Methode:

Bei den im Vorangehenden dargestellten Eichversuchen konnte eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erzielt werden. In dieser Abschn. soll die mögliche Überlegung zur möglichen Genauigkeit der Messmethode dargestellt werden und mit der gefundenen verglichen werden. Schwankungen der Pumpgeschwindigkeit durch Druckänderung im Hydrauliksystem spielten bei der Berücksichtigung der Fehlerquellen keine Rolle. Sie betrugen maximal $\pm 0,2 \%$

der Förderleistung.

Wie schon angeführt, wurden die Meßwerte dadurch abgelesen, daß die Steigung der Titrationskurven mit einem Winkelmesser bestimmt wurde. Die Ablesegenauigkeit hing u.a. von der Länge der Kurvenstrecke ab, an die der Winkelmesser angelegt wurde. Für die Eichversuche wurde durch mehrfaches Anlegen des Winkelmessers ein maximaler Ablesefehler von $\pm 1,6^\circ$ ermittelt. Die Genauigkeit des dadurch gefundenen Meßwertes (proportional dem $\tan$ des gemessenen Winkels) ist jedoch dabei abhängig von der Größe des gemessenen Winkels, wie Abb. 12 zeigt.

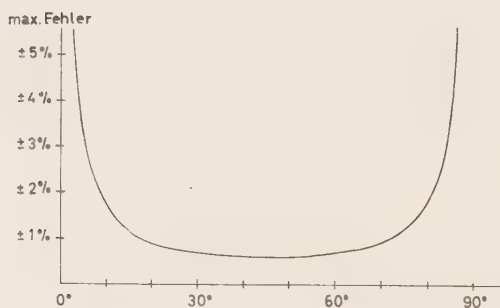


Abb. 12: Abhängigkeit des Meßwertfehlers von der Größe des gemessenen Winkels, gezeichnet für einen Ablesefehler $\pm 1,6^\circ$.

Als Beispiel sei Eichversuch XI angeführt:

Gas	gemessener Winkel		tg
2000 ppm	47°	$\pm 1,6^\circ$	$1,072 \pm 0,0062$
500 ppm	3 1/2°	$\pm 1/6^\circ$	$0,061 \pm 0,0029$
EM _I +500 ppm	32 1/2°	$\pm 1/6^\circ$	$0,637 \pm 0,0049$

$$\text{tg } 47^\circ - \text{tg } 3 \frac{1}{2}^\circ \quad \triangleq \quad 1500 \text{ ppm}$$

$$\text{tg } 32 \frac{1}{2}^\circ - \text{tg } 3 \frac{1}{2}^\circ \quad \triangleq \quad x \text{ ppm}$$

Bei Einsetzen der Extremwerte:

$$47 \frac{1}{6}^\circ - 3 \frac{1}{3}^\circ; \quad 32 \frac{1}{3}^\circ - 3 \frac{1}{3}^\circ$$

und

$$46 \frac{5}{6}^\circ - 3 \frac{2}{3}^\circ; \quad 32 \frac{2}{3}^\circ - 3 \frac{2}{3}^\circ$$

ergeben sich die beiden maximalen Abweichungen vom Mittelwert: 843 ppm und 863 ppm.

$$853 \text{ ppm} + 10 \text{ ppm} = 835 \text{ ppm} \pm 1,17 \%$$

Tatsächlich bewegten sich die Abweichungen der einzelnen Eichversuche innerhalb dieser Grenzen. Bei Mehrfachbestimmungen kommt dem Mittelwert natürlich eine größere Signifikanz zu. Bei den folgenden beschriebenen Meßversuchen gelten dieselben Überlegungen. Betrachtet man den durch Mehrfachbestimmung ermittelten Eichwert als weitgehend exakt, ergibt sich für die Meßversuche als Gesamtfehlerbreite die Fehlerbreite, die bei dem einzelnen Meßversuch entsprechend den kombinierten Beiträgen einzelner Streuungsursachen möglich ist.

Bei kleinen Steigungswinkeldifferenzen macht sich allerdings zunehmend der Winkelmeßfehler im Vergleich zur Winkelgraddifferenz bemerkbar.

Die Grenze der Empfindlichkeit ist erreicht, wenn der Steigungswinkelunterschied zwischen Nullwert und Meßwert $= 1/3^\circ$ ist (entsprechend der doppelten Nullwertschwankung (49)). Auch sie ändert sich etwas mit der Größe des Nullwertwinkels. Für das oben angeführte Beispiel betrage die Empfindlichkeit - unter optimalen Bedingungen:

Nullwert : $\text{tg } 3 \ 1/2^\circ$

doppelte Nullwertschwankung $= \text{tg } 3 \ 5/5^\circ - \text{tg } 3 \ 1/2^\circ =$
 $= 0,007$

$\text{tg } 47^\circ - \text{tg } 3 \ 1/^\circ \approx 1,011 \quad \hat{=} 10,2 \text{ } \mu\text{l/h CO}_2 \text{ (Eichwert)}$
 $0,007 \quad \hat{=} 0,07 \text{ } \mu\text{l/h} = \text{Empfindlichkeit.}$

Bei den im folgenden beschriebenen Meßversuchen wird auf eine genaue Fehlerberechnung verzichtet, da es sich um biologisches Material handelt, das ohnehin einer breiten Streuung unterliegt. Für sehr kleine Meßwerte wird als Genauigkeitsangabe $\pm$ die Empfindlichkeit eingesetzt, wobei diese auf $0,1 \text{ } \mu\text{l/h}$ aufgerundet wird.

D. ANWENDUNG DER METHODE ZUR MESSUNG DER CO_2 - DIFFUSION DURCH DAS STRATUM CORNEUM CONJUNCTUM UND ANDERE KLEINFLÄCHIGE MEMBRANEN:

I. Vorbemerkungen

Bei den Meßversuchen war der Arbeitsvorgang gegenüber

den Eichversuchen vereinfacht. Die eine der beiden Diffusionskammern enthielt die zuvor geeichte Vergleichsmembran, die andere das zu untersuchende Häutchen. Das Pumpsystem wurde mit Eichgas 500 ppM gefüllt, um einen definierten Nullwert zu bekommen. Vor allem bei geringen zu messenden CO_2 -Mengen hätte die Verwendung von Äquilibrationsgas (Preßluft 340 ppM) als Trägergas zu ungenauen Ergebnissen führen können (s. Seite 55)

Als Pumpgeschwindigkeit wurde 24,0 ml/h gewählt. Bei dieser Fördermenge war die Ausbeute noch günstig, andererseits wurde die Diffusionskammer ausreichend schnell von dem Trägergas durchsetzt. Das Gas strömte mit einer Geschwindigkeit von 28 mm/sec tangential in die Diffusionskammer ein; der Rauminhalt der größeren Kammer betrug etwa 24 μl , es wurde also innerhalb von etwa 3,6 sec das gesamte Gas erneuert.

Der Diffusionswert der untersuchten Membran errechnete sich wie folgt:

Eichgas 500 ppM		Steigung $\text{tg } \alpha$
Eichgas 500 " + Eichmembranwert		" $\text{tg } \beta$
Eichgas 500 " + Barrierewert		" $\text{tg } \gamma$

$$\text{tg } \beta - \text{tg } \alpha \hat{=} \text{Eichwert} \quad (\mu\text{l/h})$$

$$\text{tg } \gamma - \text{tg } \alpha \hat{=} \text{gesuchter Wert } x \quad (\mu\text{l/h})$$

II. Untersuchungsmaterial

Es wurden Barrierenhäutchen mit der Klebefilm-Abriß-Methode (43) an der Volarseite des Unterarmes nahe dem Handgelenk von 2 Probanden (P. u. O.) gewonnen. Die auf dem Klebefilm (Tesafilm^o) haftenden Häutchen wurden nach RICHTER (37) mit einer Splitterpinzette abgelöst. Bei P. konnten nach dem 2. Abriß mehrere ausreichend große Barrierenstückchen von dem Klebeband abpräpariert werden (P_I....P_{IV}), bei O. nach dem 3. Abriß ein etwa 2 x 2 cm² großes, zusammenhängendes Häutchen, das für die einzelnen Versuche in mehrere Teile (O_I...O_{III}) zerschnitten wurde.

Zu bemerken ist, daß das vom Probanden O. gewonnene Häutchen deutlich dünner zu sein schien als das von P. Eine Dickenmessung wurde jedoch nicht vorgenommen. Die Barrierestückchen wurden in "feuchten Kammern" aufbewahrt und jeweils innerhalb von 3 bzw. 2 Tagen untersucht.

Von drei weiteren Probanden konnten keine genügend große Abrisse erzielt werden.

Vor dem Einspannen in die Diffusionskammer wurden die Häutchen jeweils mikroskopisch auf Löcher untersucht. Als weiteres Versuchsmaterial diente eine Polyäthylenfolie, deren Dicke etwa 0,18 mm betrug und Cellophan, Dicke 0,02 mm (Hülle einer Zigarettenschachtel).

III. Versuchsbedingungen

Die Messungen wurden unter verschiedenen Bedingungen vorgenommen.

Bei den Barrierehäutchen:

Diffusionswert in feuchtem Zustand (feuchte Kammer),
in mäßig trockenem Zustand ($1/2$ - 2 h unter Raumluftbedingungen, 22 - 23°C, relative Feuchte etwa 40 %),
sowie in stark ausgetrocknetem Zustand (12 - 18 h unter Raumluftbedingungen).

In einem Versuch wurde, nach Bestimmung der Permeabilität in stark ausgetrocknetem Zustand, bei 40°C mit Wasserdampf gesättigtes CO₂ übergeleitet. (MV 15)
Die Permeabilität des Cellophans wurde einmal in trockenem Zustand gemessen, dann wurde ein Stück davon eine halbe Stunde lang in warmem Wasser einge-weicht und wiederum der Diffusionswert bestimmt, nach $1/2$ h Überleiten von trockener Preßluft nochmals.

IV. Meßergebnisse

Versuch	Material/Bemerkung	$\varnothing$	$\mu\text{l/h}$	$\mu\text{l/cm}^2 \cdot \text{h}$
			$\pm 0,1$	
MV 4	Barriere P _I , nicht ganz frisch aus feuchter Kammer, CO ₂ trocken nach 30 min.	2 mm	2,86 1,2	91 38
MV 5	P _{II} aus feuchter Kammer, CO ₂ trocken	2 mm	3,8	121
MV 6	P _{III} frisch aus feuchter Kammer, "	4 mm	17,4	138
MV 7	P _{III} 1 Stunde nach MV 6	"	11,7	93
MV 8	P _{III} 2 Stunden nach MV 6	"	0,98	7,8
MV 9	P _{III} Kammer lag mit eingespannter Barriere 12 h in Raumluftbedingungen. CO ₂ auf Primärseite bei 20°C durch Waschflasche geleitet (H ₂ O)		82	650

Tab. 4

Versuch	Material/Bemerkung	ϕ	$\mu\text{l/h}$ $\pm 0,1$	$\mu\text{l/cm}^2 \cdot \text{h}$
MV 10	PIII, 15 Min. nach MV 10, gleiche Bedingungen	4 mm	81	640
MV 11	O _I aus feuchter Kammer, in der sie 2 ^h lag nach 15 min	4 mm	1,04 0,68	8,3 5,4
MV 12	O _I nach 45 min		0,35	2,8
MV 13	O _{II} mäßig trocken, CO ₂ trocken	4 mm	0,43	3,4
MV 15	O _{II} nach 13 h Raumlufumbedingungen, CO ₂ trocken CO ₂ bei 40°C durch Waschflasche sofort gefeuchtet nach 10 min nach 30 min	4 mm	21,8 21,2 0,33 0,32	173 168 2,6 2,5
MV 16	O _{III} frisch aus feuchter Kammer, in der sie 24 h lag	4 mm	6,6	52,5
MV 17	Polyäthylen 0,17 mm dick	4 mm	3,3	26,2
MV 18	Cellophan trocken 0,02 mm dick	4 mm	1,4	11,1
MV 19	Cellophan feucht, CO ₂ trocken, sofort nach 30 min		26,6 1,67	212 13,6

Tab. 4: Meßergebnisse der Versuche mit menschlicher Hautbarriere und anderen Membranen.

Anmerkung: Wurden mehrere Versuche mit demselben Barrierehäutchen vorgenommen, blieb dies in die Diffusionskammer eingespannt.

CO trocken bedeutet, daß das CO₂ direkt aus einer Stahlbombe in die Diffusionskammer strömte.

Welcher Wasserdampfsättigungsgrad erreicht wurde beim Durchleiten durch mit H₂O gefüllte Waschflaschen (mit Kieselgurfritte) wurde nicht geprüft, es sind Werte zwischen 94 und 98 % RF anzunehmen.

Beurteilung der Versuchsergebnisse:

Aus den Versuchsergebnissen geht eine deutliche Abhängigkeit des CO₂-Durchtrittes von dem Feuchtegehalt des Barrierehäutchens hervor. Bei einem mittleren Feuchtegehalt, wiesen die Barrierehäutchen einen Minimumwert der Permeabilität auf. Dieser Zustand trat ein, wenn die Häutchen für 1 bis 2 h Raumlufbedingungen ausgesetzt wurden, bzw. wenn nach starkem Austrocknen bei 40°C mit Wasserdampf gesättigtes CO₂ übergeleitet wurde. Der Ausdruck "mittlere Feuchte" wurde gewählt, da keine genaueren Untersuchungen über den Feuchtegehalt vorgenommen wurden.

Durch Aufsättigen der Barrierehäutchen mit Wasserdampf (22°C, 100% rel. Feuchte für 24 h) stieg die Permeabilität auf etwa das 20-fache des Minimumwertes.

In stark ausgetrocknetem Zustand betrug die Permeabilität das 80- (P_{III}) bis 65- (O_{II}) fache des Minimumwertes bei mittlerer Feuchte.

Bei Cellophan konnte ebenfalls eine Steigerung der Permeabilität in feuchtem Zustand um etwa das 20-fache beobachtet werden.

Um die Veränderung der CO_2 -Permeabilität des Stratum corneum conjunctum bei unterschiedlichen Feuchtegehalten zu veranschaulichen, wurden die Versuche MV 11, MV 12, MV 15 und MV 16 in Abb. 12 zusammengefaßt.

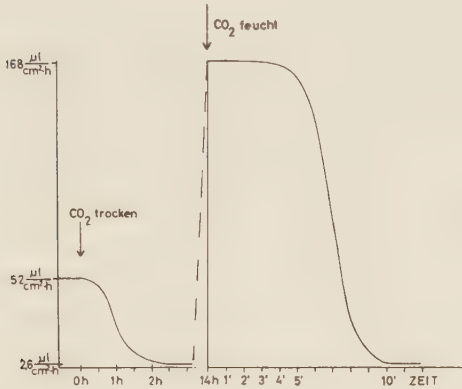


Abb. 12: Veränderung der CO_2 -Permeabilität der Hautbarriere unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Feuchtegehalten)

Bei 0 h: Clearance der mit Wasserdampf bei 100 % RF und 22°C gesättigten Barriere

bis 2 h: Abnahme der Clearance durch Trocknen der Barriere

bei 14h: Clearance nach 14 h Raumluftbedingungen

bis 14h 10': Absinken der Permeabilität bei Überleiten von bei 40°C mit H_2O gesättigtem CO_2 .

E. DISKUSSION

I. Zur Methode der kontinuierlichen Bestimmung von

CO₂ in der Gasphase:

Mit der beschriebenen Versuchsanordnung ist es gelungen, mit Hilfe einer potentiometrischen Titration im pH-Stat-Verfahren kleine, durch Membranen diffundierende CO₂-Mengen kontinuierlich über begrenzte Zeiträume hinweg zu messen.

Mikrotitrationsen sind grundsätzlich nur entsprechend verkleinerte Makroverfahren. Bei ihnen sind jedoch einige Punkte besonders zu beachten.

Da das CO₂ in der Gasphase bestimmt wird, wird eine geeignete Lösung benötigt, in der das zu bestimmende CO₂ absorbiert und anschließend titriert werden kann.

Der Vorteil der Verwendung einer verdünnten Bikarbonatlösung als Absorbens besteht u.a. darin, daß durch Konstanterhaltung des pH ein gleichbleibender Kohlendioxidpartialdruck aufrechterhalten werden kann, wenn die Konzentration während eines Versuches nicht merklich verändert wird. Wird ein Gasgemisch höherer CO₂-Konzentration in die Lösung eingeleitet, besteht ein gleichbleibendes Druckgefälle zwischen Gas und Lösung.

Wird der pH der Bikarbonatlösung im Bereich der geringsten Pufferung gewählt, so ergeben bereits geringe CO₂-Partialdruckdifferenzen eine meßbare pH-Anderung. Wird die Konzentration nicht wesentlich verändert, bleibt die Pufferwirkung gleich.

Durch geeignete Wahl der Bikarbonatkonzentration können Lösungen mit beliebigen CO₂-Partialdrücken hergestellt werden

Da p_{H} , Gasdruck und CO_2 -Löslichkeit temperaturabhängig sind, wird das Titriergefäß durch einen Thermostaten auf konstanter Temperatur gehalten.

Zur Verkleinerung von Titrationsverfahren gibt es zwei Möglichkeiten: Verdünnung der Maßflüssigkeit und Verkleinerung der Zugabemengen. Die kleinste Zugabemenge beträgt bei der verwendeten Bürette 0,2 ul.

Bei maßanalytischen Methoden, bei denen der Wirkungsgehalt der Maßflüssigkeit als Bezugswert dient, kann die Maßflüssigkeit nicht beliebig verdünnt werden, da sich sonst Verdünnungsfehler einstellen (35). Bei der beschriebenen Methode wird zu jeder CO_2 -Bestimmung der Meßwert mit zwei bekannten CO_2 -Eichwerten verglichen, so daß die Maßflüssigkeit nur als relative Bezugsgröße dient. So können stärker verdünnte Lösungen verwendet werden, als das sonst möglich ist. Ferner ist keine exakte Bestimmung des Wirkungsgehaltes notwendig, was sonst Schwierigkeiten bereiten kann (35).

Aus dem gleichen Grund ist keine quantitative Absorption im Titriergefäß erforderlich, da die Eichgasgemische unter den gleichen Bedingungen in die Bikarbonatlösung eingeleitet werden wie das zu untersuchende Gas.

Nach Einleiten eines CO_2 -haltigen Gasgemisches dauerte es kurze Zeit, bis ein konstanter Titrationswert erreicht war. Diese Latenzzeit betrug etwa 1 min. Bei den Versuchen mit der Diffusionskammer ergab sich eine weitere Verzögerung von etwa 30 sec.

Empfindlichkeit:

Es wurde -für optimale Bedingungen - eine Empfindlichkeit von $0,07 \mu\text{l/h CO}_2$ errechnet; bei einer durchschnittlichen Meßzeit von 6 Minuten ergibt sich daraus eine Empfindlichkeit von

$$7 \cdot 10^{-6} \text{ ml bzw. } 13,5 \cdot 10^{-9} \text{ g CO}_2$$

Nach der Definition von MIKA (35) würde das Verfahren zu den Ultra- bis Submikromethoden zählen.

Genauigkeit:

Nach sorgfältiger Abschätzung der Fehlerquellen ergab sich als die wesentlichste berechenbare Fehlermöglichkeit der Ablesefehler. Er wirkt sich in den verschiedenen Meßbereichen unterschiedlich aus. Bei mittleren Meßbereichen ($3 - 50 \mu\text{l/h CO}_2$) liegt der maximale Ablesefehler zwischen $\pm 1 \%$ bis $\pm 4 \%$ des Endwertes. Die Versuchsanordnung ist so als Gebrauchsmethode geeignet. Bei kleinen Meßwerten errechnet sich die Genauigkeit aus dem Verhältnis zu Empfindlichkeit.

Meßfehler durch nicht berechenbare Fehlerquellen (Änderung des Titranten, Veränderung der Stellung der Einstromkapillare) sind durch entsprechende Vorsichtsmaßnahmen weitgehend auszuschalten. Für eine genaue Berechnung der mittleren Fehlerbreite als Standardabweichung oder Variabilitätskoeffizient reicht die Anzahl der durchgeführten Untersuchungen nicht aus.

Bei den Eichversuchen konnte jedoch durch Mehrfachbestimmungen eine Abweichung vom Mittelwert festgestellt werden, die innerhalb des Bereiches der errechneten

maximalen Fehlerbreite lag.

Vergleich zu anderen Bestimmungsmethoden:

Im Vergleich zu anderen Bestimmungsmethoden weist die Versuchsanordnung eine hohe Empfindlichkeit auf. Sie ist um etwa zwei bis drei Zehnerpotenzen höher als bei den in der Literatur angegebenen herkömmlichen Verfahren. (13, 36, 24, 42, 31). Lediglich die gaschromatischen Methoden weisen unter Verwendung spezieller Detektoren zur Bestimmung von sogenannten permanenten Gasen eine höhere Empfindlichkeit auf (14, 30, 49). Zu bedenken ist jedoch dabei, daß bei den durchgeführten Untersuchungen der Wasserdampf durch aufwendige Trennverfahren hätte beseitigt werden müssen. LYSIJ und NEWTON (33) bestimmten, nach Trennung durch Molekularsiebe, CO_2 in Luft mittels eines Wärmeleitfähigkeitsdetektors und erreichten eine Empfindlichkeit von $0,2 \mu\text{g}$, ein Wert, der um das fünfzehnfache über den von mir erreichten Ergebnissen liegt.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß mit keiner der beim Studium der Literatur gefundenen Meßmethoden - außer neuesten gaschromatographischen - CO_2 mit einer ähnlichen Empfindlichkeit bestimmt werden kann. Die Methode hat zudem den Vorteil, daß sie eine kontinuierliche Bestimmung erlaubt. Das erwies sich bei einigen Versuchen als vorteilhaft.

Der bei den Barrierenversuchen ebenfalls vorhandene Wasserdampf (Verdunstung aus der Barriere, Diffusion durch die Barriere) konnte sich nicht störend auswirken, da die kleinen Mengen zu keiner merklichen Konzentrationsänderung der Bikarbonatlösung führten.

Weitere Anwendungsmöglichkeiten:

Als weitere Anwendungsmöglichkeiten erscheinen mir vor allem solche, bei denen eine Zunahme des CO_2 -Gehaltes in einem Gas gemessen werden soll, wie z.B. Messung von kleinen Mengen CO_2 , die bei chemischen oder biochemischen Reaktionen entstehen, Messung der CO_2 -Diffusion durch die Haut beim Lebenden oder durch kleine natürliche Membranen, die nicht in ausreichender Größe gewonnen werden können, um ihre Permeabilität mit weniger empfindlichen Methoden zu messen.

Die Methode ließe sich jedoch auch zur Bestimmung des CO_2 -Gehaltes von sonst säurefreien Gasproben verwenden, möglicherweise sogar als Detektor für gaschromatische Verfahren.

Für kontinuierliche Messungen über längere Zeit erscheint mir die Methode in der vorliegenden Versuchsanordnung nicht geeignet, da dabei Veränderungen des Wirkungsgehaltes des Titranten die Genauigkeit der Ergebnisse stören könnten.

Nachteile der Methodik

Da die Versuchsanordnung mit CO_2 -haltigen Gasgemischen geeicht wird, ist es erforderlich, daß deren CO_2 -Gehalt genau bestimmbar ist. Daraus ergibt sich ein nicht unbeachtlicher apparativer Aufwand; es müssen also wenigstens zwei Gasgemische zur Verfügung stehen (z.B. in Vorratsflaschen), deren CO_2 -Gehalt zuvor durch eine andere Methode bestimmt wurde, oder es müssen durch eine exakte Gasmischpumpe entsprechende Gemische hergestellt werden. Eine andere Möglichkeit der Eichung wäre die

Verwendung von Folien als Vergleichsmembranen, deren Dicke und Diffusionskonstanten bekannt sind.

II. Zu den Untersuchungen der CO_2 -Diffusion durch das isolierte Stratum corneum conjunctum:

Die Methode der in-vitro-Untersuchung an mit Klebeband isolierten menschlichen Barrierehäutchen wird von zahlreichen Autoren als geeignetes Modell der in-vivo-Verhältnisse anerkannt (44, 47, 9). Die Gewinnung des Hautabrisses an der Beugeseite des Unterarms nahe dem Handgelenk hat den Vorteil, daß sich dort keine Haare befinden, außerdem läßt sich dort besonders leicht ein zusammenhängendes Häutchen ablösen. Aus den Permeationswerten dieser Häutchen kann jedoch nicht ohne weiteres geschlossen werden, daß die gleichen Verhältnisse auch an anderen Körperstellen vorliegen.

Über den Einfluß der Feuchte auf die Permeabilität der Barriere:

Aus den Versuchen mit der menschlichen Hautbarriere ergibt sich eine starke Abhängigkeit der Permeabilität für CO_2 vom Feuchtigkeitsgehalt des Häutchens.

Eine Erhöhung der Permeabilität der Barriere durch Wasseraufnahme wurde schon für andere Stoffe beschrieben (47), vor allem aber für Wasser (6, 22, 37).

BUETTNER sowie BLANK stellten übereinstimmend fest, daß die Wasseraufnahme der Haut abhängig ist von der relativen Feuchte (RF) des sie umgebenden Mediums, und daß sie oberhalb 90% RF rapide ansteigt. Sie beobachteten, ebenso wie

RICHTER (37) , daß bei annähernd 100% RF die Barriere ihr Gewicht durch Wasseraufnahme etwa verdoppelt bis verdreifacht.

Zur Permeabilitätserhöhung im feuchten Zustand:

Zur Klärung der Permeabilitätserhöhung in feuchtem Zustand können verschiedene Modelle herangezogen werden.

1. Eine Elution von hygroskopischen oder anderen die Permeabilität beeinflussenden Substanzen findet statt (entfällt, da sich die Barriere nicht im Wasserbad befand und die Erhöhung der Permeabilität reversibel war).
2. Durch Quellungsvorgänge runden sich Hornzellen ab, wodurch die Interzellulärräume erweitert werden (22).
3. Durch vermehrte Wassereinlagerung in die Interzellulärräume ändert sich die Diffusivität in diesen.
4. Durch Wassereinlagerung und Quellungsvorgänge in der Keratinsubstanz wird deren Permeabilität erhöht.

Möglicherweise handelt es sich bei den tatsächlichen Erscheinungen um das Zusammenspiel mehrerer Faktoren. Dafür, daß die Möglichkeit 4. zu einem großen Teil für die erhöhte Permeabilität verantwortlich ist, scheinen folgende Überlegungen zu sprechen:

Nur etwa 0,4 % der Barrierenfläche wird von Interzelluläräumen eingenommen (47). In einem Modellversuch (s. S. Vers. MV 19) konnte nachgewiesen werden, daß die Permeabilität von Cellophan für CO_2 durch entsprechende Vorbe-

handlung mit Wasser (Einweichen in warmem Wasser) ebenfalls um etwa das 20-fache gesteigert werden kann. Das gewöhnliche Cellophan besteht aus glasartig durchsichtigen, 0,02 mm dicken Folien, die 80% Cellulose, 12 % Glycerin und 8 % Wasser enthalten. In Wasser und Wasserdampf quillt Zellglas (die Grundsubstanz von Cellophan) auf. Um die Folien gegen Wasserdampf unempfindlich zu machen, überzieht man sie mit Kollodiumlösung, in der Harze und Wachse aufgelöst sind (38).

Bei Cellophan handelt es sich also um ein ähnlich strukturiertes Material , wie bei den Hornzellen des Stratum corneum conjunctum: Fadenmoleküle mit seitlicher Vernetzung und hydrophilen Valenzen (Cellulose - Keratingerüst), hydrophile und hygroskopische Substanzen (Quellfähigkeit, Glycerin, hygroskopische Substanzen der Barriere)(47), sowie eine hydrophobe Hüllschicht (Harze und Wachse: Lipide der Zellmembran).

Es ist vorstellbar, daß durch die Einlagerung von Wassermolekülen zwischen diese Strukturen die Abstände der Makromoleküle vergrößert werden und somit dem CO_2 ein geringerer Diffusionswiderstand geboten wird.

Folgt man dem Modell der Porendiffusion in TREGGEAR (47), bei dem die mit Wasser gefüllten Poren und die Grundsubstanz als zwei voneinander unabhängige Systeme dargestellt werden, ist es erklärlich, daß durch Wasseraufnahme im Verhältnis 1 : 1 (Wasser zu trockener Barriere) die Permeabilität erheblich gesteigert wird, zumal Wasser eine um drei Zehnerpotenzen höhere Diffusionskonstante für CO_2 aufweist als das Stratum corneum conjunctum insgesamt.

Zur Permeabilitäterhöhung in stark ausgetrocknetem Zustand: BLANK (7) konnte feststellen, daß bei einer relativen Feuchte unter 60% der Wassergehalt des isolierten Stratum corneum conjunctum auf unter 10% abnimmt und gleichzeitig die mechanische Festigkeit auf ein Minimum sinkt. Bei den eigenen Untersuchungen konnte unter diesen Bedingungen (12 - 13 h Raumluftbedingungen, 22°C, durchschnittliche RF 40%) eine Erhöhung der CO₂-Permeabilität der Barriere um das 65 - 80-fache beobachtet werden. Diese Erscheinung erwies sich als reversibel, bei einem Versuch wurde das Barrierehäutchen nach dem Ausspannen aus der Diffusionskammer lichtmikroskopisch untersucht. Es konnten keine Löcher gefunden werden.

TREGGEAR (47) weist bei seiner Abhandlung über die Theorie der Diffusionsvorgänge in der Haut auf zwei mögliche Permeationswege hin: Durch die Interzellulärräume und durch die Hornzellen selbst. Läßt man für die normalerweise stattfindende Diffusion beide Möglichkeiten offen, so muß man annehmen, daß bei den Minimumswerten der Permeabilität bei mittlerem Feuchtegehalt der Barriere der Diffusionswiderstand beider Wege am größten ist.

Daß durch weiteres Austrocknen die Permeabilität der Hornsubstanz wieder zunimmt, ist unwahrscheinlich. Andererseits konnten bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen luft - haltige Spalten in den Interzellulärräumen festgestellt werden.

So kann man sich eher vorstellen, daß durch das starke Austrocknen ein Schrumpfungsprozeß der Hornzellen eintritt, sowie durch den Wasserverlust der Interzellulärsubstanz lufthaltige Hohlräume zwischen den Zellen auf-

treten. Das würde zu einem Teil auch die verminderte Haftfähigkeit der Zellen untereinander erklären, weil dadurch die Stützfunktion der Interzellulärsubstanz vermindert würde (Fehlen der kapillaren Kräfte, Fehlen der hydraulischen Schutzfunktion).

Die Diffusivität für CO_2 in Luft ist jedoch bedeutend höher als in wässrigem Medium. Auch unter Berücksichtigung der geringen Porenweite könnte so die erhöhte Permeabilität der Barriere in stark ausgetrocknetem Zustand erklärt werden.

Zur genaueren Klärung der Abhängigkeit der Permeabilität der Hautbarriere von dem Feuchtigkeitsgehalt und der relativen Feuchte müssen noch weitere Untersuchungen unter genau definierten Bedingungen vorgenommen werden.

Zur Frage des Permeationsweges

Diffundiert ein Stoff durch eine Membran mit der Dicke h , so wird eine bestimmte Zeit t benötigt, bis das sogenannte " steady state", der Gleichgewichtszustand erreicht ist, und der Mengenfluß pro Zeit konstant wird. Dieser Zeitpunkt ist jedoch schwer zu bestimmen.

Deshalb wurde der Begriff der Induktionszeit (25) eingeführt (s. Abb. 14).

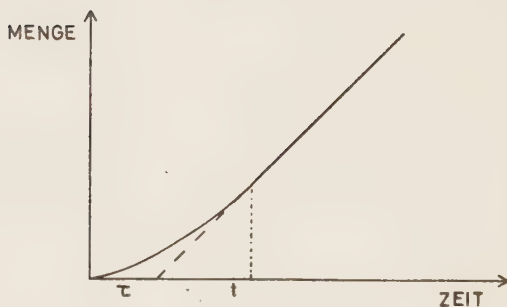


Abb. 14.

JOST (25) errechnet für die Induktionszeit die Beziehung:

$$= \frac{h^2}{6 \cdot D} ;$$

wobei h = Dicke der Membran

D = Diffusionskonstante $\frac{V \cdot h}{F \cdot t}$

F = Fläche der Membran

t = Zeit

Einheit für $= \frac{h \cdot h}{6} : \frac{V \cdot h}{F \cdot t} = t ;$

Das heißt, die Induktionszeit ist proportional dem Quadrat der Dicke der Membran und umgekehrt proportional

der Diffusionskonstante.

Nimmt man für die Barriere eine einheitliche Membran mit unter den Versuchsbedingungen gleichbleibender Diffusionskonstante an, dann müßte die oben angeführte Beziehung gelten. Besteht die Barriere jedoch in einem inhomogenen Gebilde, von dem ein Teil impermeabel, der andere besser permeabel ist, dann müßte sich die Induktionszeit verkürzen, da die Diffusionskonstante D entsprechend der kleineren zur Verfügung stehenden Fläche größer sein müßte.

Für MV 17 (Polyäthylen 0,17 mm Dicke) und Meßversuch 18 (Cellophan 0,02 mm Dicke) wurden Induktionszeiten von 6,5 bzw. 3,6 Minuten errechnet und auch in etwa gefunden. Die errechneten Induktionszeiten für die Barriere (150 sec bei $6 \mu\text{l/cm}^2 \cdot \text{h}$ und $7,5 \text{ sec}$ bei $120 \mu\text{l/cm}^2 \cdot \text{h}$, errechnet für eine Dicke von 0,015 mm) waren jedoch zu kurz, als daß sie unter den Versuchsbedingungen mit genügender Genauigkeit hätten bestimmt werden können. Dies wäre jedoch ein Weg, der von TREGGEAR aufgeworfenen Frage näher zu kommen.

Vergleich der eigenen Meßwerte mit den in der Literatur angegebenen:

Beim Vergleich der gefundenen Werte für die CO_2 -Permeabilität des Stratum corneum conjunctum in vitro mit den am Lebenden von verschiedenen Autoren gemessenen Werten zeigt sich, daß diese gut übereinstimmen. Besonders wertvoll erscheint der Vergleich mit den Untersuchungen, bei denen während der Versuche die Haut mit Wasser in Berührung stand, wodurch praktisch der Diffusionswert bei maximaler Feuchtigkeit bestimmt wurde.

KRAMER	ca. 150	$\mu\text{l}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$
KRAMER, SARRE	100	"
HAEUSSLER	$155 \pm 40\%$	"
SCHULZE	64 - 260	"
Eigene Werte	52 - 138	"

Tab. 5: Clearancezahlen bei feuchter Haut

Da für das isolierte Stratum corneum conjunctum unter vergleichbaren Bedingungen fast identische Diffusionszahlen gefunden wurden, wie bei den in der Literatur angegebenen Untersuchungen, kann angenommen werden, daß auch für CO_2 das Stratum corneum conjunctum den hauptsächlichsten Diffusionswiderstand darstellt.

Zum Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit im Sekundärsystem:

Für die Untersuchungen an der menschlichen Hautbarriere wurde eine Gasgeschwindigkeit von 24 ml/h gewählt. Bei einem für die Strömungsgeschwindigkeit wirksamen größten Querschnitt der Diffusionskammer von $2 \text{ r} \cdot \text{h} = 6 \text{ mm}^2$ ergibt sich eine mittlere Strömungsgeschwindigkeit von $24 \text{ 000} : 6 \text{ (mm/h)} = 1,1 \text{ mm/sec}$, die praktisch stehender Luft gleichkommt.

Bei den Untersuchungen über die Wasserpermeabilität der Barriere und die Perspiratio insensibilis konnte eine Abhängigkeit beobachtet werden (5, 6).

Es ist jedoch im Vergleich zu den Untersuchungen über die CO_2 -Diffusion zu berücksichtigen, daß es sich dabei um

einen Verdunstungsprozeß handelt, der mit einem erheblichen Energieverbrauch verbunden ist. Dadurch kann die Strömungsgeschwindigkeit einen größeren Einfluß auf die Grenzschicht ausüben.

Ob durch eine Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit auch eine Zunahme der CO_2 -Diffusion erfolgt, konnte nicht geprüft werden, da die Versuchsanordnung keine höheren Gasgeschwindigkeiten zuließ.

Die CO_2 -Permeabilität der Barriere wurde bei Temperaturen von $22 - 23^\circ\text{C}$ untersucht. Der Einfluß der Temperatur auf die Permeabilität wurde nicht geprüft.

Individuelle Schwankungen:

Wie schon zahlreiche Untersuchungen zeigten, bestehen große individuelle Schwankungen in der Permeabilität der menschlichen Hautbarriere.

Dies konnte bei den eigenen Untersuchungen bestätigt werden, wenn auch die an 2 Versuchspersonen gewonnenen Meßwerte keine Aussage über Variationsbreite und Mittelwert gestatten. Bei verschiedenen, nahegelegenen Hautstückchen derselben Versuchsperson konnten jedoch gut übereinstimmende Werte gefunden werden.

Vergleich der H_2O - und der CO_2 -Permeabilität des Coniunctums und einiger anderer Stoffe:

Abschließend soll noch ein Vergleich der CO_2 und der H_2O -Permeabilität des Stratum corneum coniunctum und einiger anderer Substanzen dargestellt werden.

Als Diffusionskonstante wurde die allgemein übliche Einheit cm^2/sec gewählt, die Dicke der Barriere mit $10 \cdot 10^{-3}$ mm angenommen (37).

Material	$D \cdot 10^8$ H_2O	$D \cdot 10^8$ CO_2	Quelle
Barriere, feucht		3,8	selbst
Barriere, mittlere Feuchte (Minimumwert)		0,19	"
Barriere, trocken		18	"
Barriere, Wasserdampf - trockene Luft	0,31		RICHTER
Barriere, Wasser-Wasser	16,9		"
Cellophan, trocken		0,61	selbst
Cellophan, feucht		11,8	"
Teflon		4,6	(38a)
Wasser		1770	(3)

Tab. 6: Diffusionskonstanten für H_2O und CO_2 für das menschliche Stratum corneum conjunctum und einige andere Stoffe.

Wir sehen, daß die Permeabilität der Hautbarriere für CO_2 nur wenig geringer ist als die für Wasser und daß sie ähnlichen Gesetzen folgt. Außerdem ersehen wir aus der Tabelle das der Hautbarriere analoge Verhalten von Cellophan für die CO_2 -Diffusion.

F. Zusammenfassung

1. Es wird eine Methode zur CO_2 -Bestimmung im Mikrogrammbereich entwickelt, die geeignet ist, die CO_2 -Diffusion durch die menschliche Hautbarriere in vitro zu messen.
2. Die Methode beruht auf potentiometrischer Titration im pH-Stat-Verfahren. Als Adsorbens wird verdünnte Na-Bikarbonatlösung verwendet mit Zusatz eines Detergens. Als Titrant dient verdünnte KOH.
3. Geeicht wird die Versuchsanordnung mit genau eingestellten Gasgemischen.
4. Zur Messung der CO_2 -Diffusion durch kleinflächige Membranen wird der Diffusionswert der zu untersuchenden Membran mit dem vorher genau bestimmten Diffusionswert einer Vergleichsmembran in Beziehung gesetzt.
5. Es werden Untersuchungen an, durch eine Klebefilmabreißmethode gewonnenen Barrierehäutchen, unter verschiedenen Versuchsbedingungen vorgenommen.
6. Bei einem mittleren Feuchtegehalt des Barrierehäutchens findet sich ein Minimumswert der CO_2 -Permeabilität.
7. Durch Aufsättigung des Barrierehäutchens mit Wasserdampf steigt die Permeabilität für CO_2 auf etwa das 20-fache.
8. Bei starker Austrocknung des Barrierehäutchens steigt die Permeabilität auf das 60- bis 80-fache.
9. Die Änderung der Permeabilität ist reversibel.
10. Eine Steigerung der CO_2 -Permeabilität durch hohen Feuchtegehalt wird auch bei Cellophan^R gefunden.

11. Es wird die Empfindlichkeit und Genauigkeit der CO_2 -Bestimmungsmethode mit anderen Methoden verglichen.
12. Die Ursachen der Permeabilitätsänderung durch unterschiedlichen Feuchtegehalt werden diskutiert.
13. Durch Vergleich mit in der Literatur angegebenen CO_2 -Diffusionswerten der menschlichen Haut in vivo ergibt sich, daß auch für CO_2 das sogenannte Stratum corneum conjunctum den hauptsächlichlichen Diffusionswiderstand darstellt.

G. Literaturverzeichnis

1. ABERNATHY, J.: Surgical and physiological Essays.
London (1793). Zit. in FITZGERALD (20)
2. ANASTRUP, K. and R. DJURTOFF: A Simple Set-Up for
the Determination of Titrable, Volatile
Compounds by Gas Chromatography
Radiometer News 1, 4 (1960)
3. D'ANS, J. und E. IAX. Taschenbuch für Chemiker
und Physiker. Springer Verlag Berlin Göttingen
Heidelberg (1944)
4. ASTRUP, P.: A simple electrometric technique for
the determination of carbon dioxide tension
in plasma, total content of carbon dioxide
in plasma and bicarbonate content in "sepa-
rated" plasma at fixed carbon dioxide ten-
sion (40 mm Hg).
Scand. J. clin. Lab. Invest. 8, 33 - 43
(1956)
5. BERENSON, G.S. and G.E. BURCH: Studies of diffu-
sion of water through dead human skin. Amer
J. Trop. Med. 31, 834 (1951)
6. BLANK, I.H.: Factors, which influence the water
content of the stratum corneum. J. Invest.
Dermat. 18, 433 (1953)
7. BLANK, I.H.: Further observations on factors which
influence the water content of the stratum
corneum. J. Invest. Dermat. 21, 259 (1953)
8. VAN BRUGGEN, I.T. and I.C. SCOTT: Mikrobestimmung
von Kohlendioxyd. Z. f. analyt. Chemie 199,
298 (1964)
9. BUETTNER, K.J.: On the transfer function of human
skin. Dept. of Met. and Clim. Annual Report
(1960)

10. COGGINS, C.H. and R.H. MAFFLY: Ref. in Z. f. anal. Chemie 218, 233 (1966)
11. CONWAY, B.E.: Elektrochemische Tabellen. Govi-Verlag Frankfurt (1957)
12. DANE, E. und F. WILLE: Kleines chemisches Praktikum. Verlag Chemie Weinheim (1961)
13. DECHERT, W.: Die exakte Bestimmung niedriger Kohlensäurekonzentrationen in Luft. Z. f. anal. Chemie 217, 7 (1966)
14. DERGE, K.: Detektor-Systeme in der Gaschromatographie. Chemiker-Zeitung / Chemische Apparatur 89, 247 - 262 (1965)
- 15.+ DIRNAGL, D.: Vergleichende Messungen der Durchlässigkeit von intakter Haut und von isoliertem Barrierehäutchen für Wasser und Jod. De structura et Functione Stratorum Epidermis s.d. Barrierae - Symposium dermatologicum Brno 1964
- 16.+ DIRNAGL, K. und H. DREXEL: Die quantitative Erfassung der Aufnahme von Quellinhaltstoffen in die Haut und durch die Haut. Arch. f. physik. Therapie 15, 283 - 305 (1963)
17. ECKERVOGT, F.J.: Über den Gaswechsel im CO₂-Gas-Bad. Zeitschr. f. Kreislauff. 43, 369 ff (1956)
18. ENDER, F., HOPPE-SEYLER, THIERFELDER: Handbuch der Physiologisch- und Pathologisch-chemischen Analyse. Band 1
- 19.+ ERHARD, G.: Die Beeinflussung der insensiblen Hautwasserabgabe durch Hornhautabrisse und ihre anschließende Normalisierung. Diss. München (1966)
20. FITZGERALD, L.R.: Cutaneous Respiration in Man. Physiol. Rev. 37, 325 (1957)

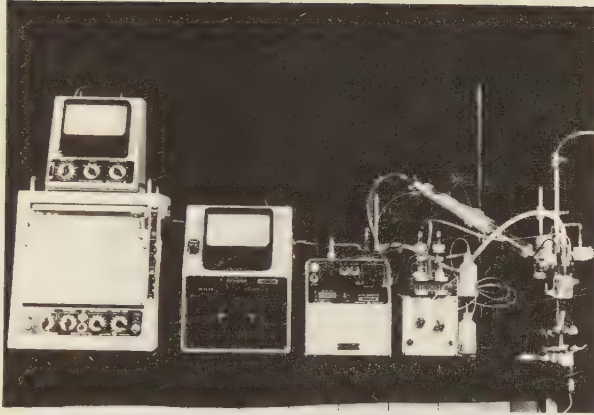
- K. SCHUBERT, H.: *Die Kohlendioxid-Gehalte von Wasser*.
München 1964.
- FRÜG. Arch. 277, 448 (1936)
- 22.† HETZELMANN, L.: Untersuchungen zur Abhängigkeit
der insensiblen Hautwasser-Abgabe von
Luftfeuchtigkeit. Diss. München (1967)
3. HOLLEMAN-WIBERG: Lehrbuch der anorganischen Chemie
Walter de Gruyter Verl. Berlin (1958)
24. HUBER, W.: Titrationen in nichtwässrigen Lösungs-
mitteln. Methoden der Analyse 1, 214 - 215
(1964)
25. JOST, W.: Diffusion, Methoden der Messung und Aus-
wertung. Fortschr. d. physik. Chemie, 1, 58
(1967)
26. JURANEK, J.: Collect. czechoslov. chem. commun. 23,
78 (1958) ref. in Z. f. anal. Chemie 163, 147,
(1962)
27. KOBLET, H.: Physikalische Begriffe der klinischen
Biochemie S. 46 Georg Thieme Verlag/Stuttgart
(1964)
28. KRAMER, K.: Untersuchungen über die Kohlensäure-
diffusion durch die Haut.
Balneol. 2, 4 (1935)
29. KRAMER, K. und H. SARRÉ: Untersuchungen über die
Kohlensäurediffusion durch die Haut.
Naunyn-Schmiedeberg Archiv 180, 545 (1936)
30. LANDOWNE, R.A. and C.R. LIPSKY: Eine Nachweismöglich-
keit der sogenannten permanenten Gase in der
Gaschromatographie mit einem Ionisationsdetektor.
Z. f. anal. Chemie 185, 373 (1962)
31. LEITEN, W.: Ein einfaches Verfahren zur Bestimmung
von Kohlendioxyd im ppm-Bereich strömender
Gase. Z. f. anal. Chemie 193, 24 - 27 (1963)

32. LINNET, N.: Die Anwendung der pH-Stat-Technik zu biochemischen Untersuchungen: Die quantitative Insulinbestimmung
Radiometer-Sonderdruck ST 53
33. LYSYJ, I. und P.R. NEWTON: Ref. in Z. f. anal. Chemie 208, 46 (1965)
34. MAIL, J.H.W.: The transport of water through the human epidermis. J. Invest. Dermat. 27, 451 - 469 (1965)
35. MIKA, J.: Die Methoden der Mikromaßanalyse.
Die chemische Analyse Bd. 42 2.Auflage
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1958)
36. PRYBIL, M.: Coulometrische Eichung der Geräte zur Bestimmung kleiner Kohlendioxydmengen
Z. f. analyt. Chemie 217, 7 (1966)
- 37.* RICHTER, J.: Quantitative Untersuchungen zur Permeabilität des Stratum corneum conjunctum menschlicher Haut für Tritium-markiertes Wasser. Diss. München (1967)
38. ROEMPP, H.: Chemie-Lexikon, Bd. II, zweite Auflage
Stuttgart (1950)
- 38a. RUEDI, B. und A. FLEISCH: Diffusion de gaz à-travers des membranes plastiques minces
Helv. Physiol. Acta 20, 193 - 205 (1962)
39. SCHMID, G.: Über die Resorption von Kohlensäure und Schwefelwasserstoff durch die Haut.
Arch. int. de Pharm. et de Therapie
55, 318 - 325 (1937)
40. SCHULZE, W.: Untersuchungen über die Alkaliempfindlichkeit, das Alkalineutralisationsvermögen und die CO₂-Abgabe der Haut.
Arch. Dermat. 185, 93 (1943)

41. SIGGARD-ANDERSEN, O., K. ENGEL, K. JORGENSEN und P. ASTRUP.: Ein Mikroverfahren zur Bestimmung des pH, Kohlendioxyddruckes, Basenüberschusses und Standard-Bikarbonates im Kapillarblut. Scand. J. Clin. & Lab. Invest. 12, 172-176 (1960) Sonderdruck
42. SNOEK, O.I. and GOUVERNEUR P.: A simple photo-electric carbon dioxide titrator Anal. Chim. Acta 39 (1967)
43. SZAKALL, A.: Über die Morphologie und Physiologie der Wasserbarriere und der lebenden menschlichen Epidermis. Pflüg. Arch. 266, 16 (1957)
44. SZAKALL, A.: Über die Eigenschaften, Herkunft und physiologischen Funktionen der die H-Konzentrationen bestimmenden Wirkstoffe in der verhornenden Epidermis. Arch. Klin. Exp. Dermat. 201, 331 (1955)
45. SZEKIELDA, K.H.: Beitrag zur Bestimmung kleiner Mengen Kohlendioxyd. Z. f. anal. Chemie 204, 81 (1964)
- 46.⁺ TOLLE, U., K. DIRNAGL und H. DREXEL: Zur Frage der biologisch wirksamen Grenzkonzentrationen in Kohlensäuregasbädern. Arch. f. physik. Ther. 18, 215 (1966)
47. TREGGEAR, R. T.: Physical functions of skin Theoretical and experimental biology Vol. 5 Academic Press London and New York (1966)
48. VESTERGAARD-BOGIND, B.: Automatic pH regulation of cell suspension by a gasometric pH-stat. Scand. J. clin. Lab. Invest. 14, 5 (1966)

49. YOUNG, I.G.: Gas chromatography
New York and London (1961)

(+) Arbeiten aus dem Institut für medizinische
Balneologie und Klimatologie der Universität
München.



Titriergefäß

Miniflow-Pumpe

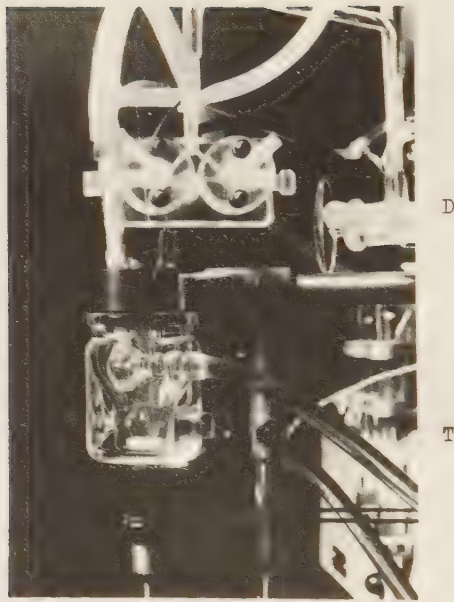
Autobürette ABU 1b

Titrator TTT 1c

Schreiber SBR 2c

Fotographische Darstellung der Versuchsanordnung

1. Gesamtansicht



Fotographische Darstellung der Versuchsanordnung

2. Diffusionskammer und Titriergefäß

D = Diffusionskammer mit Glasschliffverbindung

T = Titriergefäß mit Thermostatanschluß und Magnet-
rührer



Fotographische Darstellung der Versuchsanordnung
3. Titriergefäß.

Links erkennt man die Glaselektrode, rechts die Kalomel-
elektrode. Die Einstromkapillare sitzt dicht über den
Korpus des sich rasch drehenden Rührplättchens.
Rechts am Oberrand des Rührplättchens ist ein Gasbläs-
chen zu erkennen

Herrn Prof. Dr. H. Drexel und Herrn Dipl.-Phys.
K. Dirnagl möchte ich für die Überlassung des The-
mas dieser Arbeit, ihre freundliche Unterstützung
und die wertvollen Anregungen danken. Ebenso danke
ich Herrn Dipl.-Chem. Dr. H. Pratzel für die zahl-
reichen Ratschläge zur Durchführung des experimen-
tellen Teiles.

Lebenslauf

Am 31. Mai 1943 wurde ich in Bad Reichenhall geboren als Sohn des Internisten Dr. Kaspar Schraube und seiner Frau Lotte, geborene Dorenberg.

In meiner Heimatstadt Traunstein besuchte ich von 1949 bis 1953 die Volksschule und anschließend das Humanistische Gymnasium, wo ich 1962 die Reifeprüfung ablegte. Im gleichen Jahr begann ich in München das Studium der Medizin. Nach dem Physikum studierte ich ein Semester an der Universität Wien. Danach kehrte ich nach München zurück und legte dort im Juli 1968 das Medizinische Staatsexamen ab. Seit September 1968 bin ich als Medizinalassistent tätig.

